



**Sandra Cristina  
Pereira Cachinho**

**Titânio macroporoso para osteointegração –  
replicação inversa de esponjas poliméricas**

tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica – Ramo Biomateriais, realizada sob a orientação científica do Dr. Rui Nunes Correia, Professor Associado com Agregação do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Profa. Dra. Maria Helena Figueira Vaz Fernandes**  
Professora associada da Universidade de Aveiro

**Prof. Dr. José Carlos Magalhães Duque da Fonseca**  
Professor auxiliar da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

**Prof. Dr. Rui Nunes Correia**  
professor associado com agregação da Universidade de Aveiro (orientador)

## **agradecimentos**

A Deus, por toda a força nos momentos de maior desânimo.

Aos meus pais e irmã, por todo o apoio e confiança. Pela compreensão e palavras de coragem nos momentos mais difíceis e de fadiga que surgiram durante a realização desta tese.

Ao Professor Doutor Rui Correia, pelo apoio, rigor científico, amizade e liberdade que me deu para gerir o meu trabalho.

À Professora Doutora Isabel Salvado, pela amizade, disponibilidade e ajuda prestada.

À Marta Ferro, Sandra Pina, Helena Marçal e Mário Mateus, pela amizade, momentos de alegria, incentivo e apoio.

Aos técnicos do departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro, pela ajuda concedida durante a elaboração deste trabalho, em especial à Eng.<sup>a</sup> Conceição, pelas palavras de amizade.

Às amigas da secretaria, pela amizade, simpatia e por todo o auxílio em termos administrativos e aquisição de material.

Aos colegas de laboratório Ana Luísa Silva, Bárbara Leite e Nuno Almeida, pela amizade e incentivo.

Às colegas de mestrado Ana Martins e Ermelinda Salgueiredo, pela amizade e momentos de convívio.

Ao Professor Doutor Luís Rocha, da Universidade de Guimarães, e ao seu grupo de investigação, em especial à Catarina Vieira e Jorge Pereira, pela simpatia com que me receberam, pela disponibilidade e ajuda na utilização do forno de vácuo, equipamento fundamental à realização do meu trabalho.

À Alexandra Lemos, ao Alexandre Bastos e ao Ricardo Serra, pela troca de ideias e auxílio neste trabalho.

## palavras-chave

titânio, estruturas porosas, sol-gel, hidroxiapatite, propriedades mecânicas, comportamento *in vitro*, corrosão.

## resumo

Apesar de o titânio ser um sucesso clínico em aplicações de ortopedia e dentária, ainda persistem problemas relacionados com a ligação osso-implante para além das diferenças em termos de propriedades mecânicas, entre o osso e o material de implante, levando a que a reabsorção óssea ocorra.

Para fazer frente a estes problemas, têm sido feitas tentativas a nível do design do implante de modo a desenvolver materiais com uma superfície porosa tridimensional osteocondutiva para a regeneração óssea. A utilização de materiais com a estrutura anteriormente descrita permite uma ancoragem biológica para os tecidos circundantes através do crescimento ósseo no interior dos seus poros. Além disso, o valor do módulo de Young pode ser ajustado de modo a equiparar o osso trabecular limitando o efeito de blindagem de tensões ("stress shielding"), prevenindo assim a reabsorção óssea na interface do implante. Este tipo de estrutura favorece a osteointegração uma vez que provê espaços de ancoragem para as células ósseas e para o aumento do tecido ósseo e vascular. Para além disto, e para se conseguir um crescimento ósseo mais rápido, através do espaço aberto do poro, e uma estabilização rápida e forte, mesmo sob condições desfavoráveis, recorresse ao revestimento destes materiais com cerâmicos bioactivos, tal como a hidroxiapatite.

Neste trabalho apresenta-se a produção de estruturas porosas de titânio, recorrendo-se ao método de replicação da esponja usando uma suspensão de hidreto de titânio com as características reológicas adequadas, e revestidas com hidroxiapatite pelo método sol-gel. As estruturas porosas são caracterizadas em termos de microestrutura e propriedades mecânicas. De modo a avaliar o carácter bioactivo destes materiais realizaram-se ensaios *in vitro* numa solução simuladora do plasma humano (SBF). Foram ainda realizados ensaios electroquímicos que permitiram avaliar a influência do revestimento na protecção à corrosão.

As estruturas porosas obtidas apresentam uma estrutura tridimensional, com porosidade aberta interligada. A introdução da porosidade faz baixar o valor do módulo de elasticidade reduzindo assim o efeito de blindagem de tensões e consequentemente evitando a reabsorção óssea. Os ensaios *in vitro* mostraram o aparecimento de uma camada de hidroxiapatite nas paredes do material. Para além da bioactividade introduzida pelo revestimento a resistência à corrosão é também melhorada.

**keywords**

titanium, porous structures, sol-gel, hydroxyapatite, mechanical properties, *in vitro* behavior, corrosion.

**abstract**

While titanium has been successful as an orthopedic or dental implant material, performance problems still persist related to implant-bone interfacial strength and mechanical modulus mismatch between titanium and tissue. To address these issues, current attempts in implant design have shifted towards the development of biomaterials incorporating three-dimensional osteoconductive porous structures for bone regeneration. The advantage of porous materials is their ability to provide biological anchorage for the surrounding bone tissue via the ingrowth of mineralized tissue into the pore space. Porous structures are an advantageous alternative because the elastic modulus can be adjusted to match that of trabecular bone to limit stress shielding thereby preventing bone resorption at the implant interface.

Furthermore, to achieve early and strong stabilization these structures are coated with bioactive ceramics, as hydroxyapatite.

In the present work, titanium porous structures were produced by replication sponge method, from  $\text{TiH}_2$  slurry, and coating with HA by the sol-gel process. The obtained structures were microstructure and mechanical characterized. The *in vitro* bioactivity was investigated by soaking them in a simulated body fluid (SBF). Electrochemical characterization was also recorded with the aim of evaluated the coating effect on the corrosion resistance.

The structures present a three-dimensionally interconnected porous structure. The porosity adjusts young's modulus. With the *in vitro* tests an apatite layer on the porous surface was observed. The corrosion resistance is also improved with the coating.

# *Índice*

<b>Objectivos</b>	1
<b>Capítulo 1</b>	5
<b>Enquadramento do tema</b>	7
1.1. O Osso	7
1.1.1. Introdução	7
1.1.2. Classificação do osso	7
1.1.3. Composição do osso	10
1.1.4. As células do osso	11
1.1.5. Fractura e regeneração óssea	13
1.2. Biomateriais	16
1.2.1 Histórico	16
1.2.2. Biomateriais: requisitos e aplicações	17
1.3. Estruturas metálicas porosas para osteointegração	22
1.3.1. Introdução	22
1.3.2. Titânio e suas ligas	23
1.3.3. Estruturas porosas	26
1.3.4. Propriedades biológicas	27
1.3.5. Técnica sol-gel	28
<b>Capítulo 2</b>	33
<b>Materiais e métodos de caracterização</b>	35
2.1. Materiais	35
2.1.1. Hidreto de titânio	35

2.1.2. Meio dispersante e dispersantes	36
2.1.3. k-Carragenano	36
2.1.4. SBF	38
2.2. Métodos de caracterização	39
2.2.1. Difrakção de raios-X	39
2.2.2. Análise granulométrica	39
2.2.3. Área superficial específica	39
2.2.4. Caracterização reológica	40
2.2.5. Potencial Zeta	40
2.2.5. Microscopia electrónica de varrimento e espectroscopia por dispersão de energia	40
2.2.6. Caracterização mecânica	41
2.2.7. Espectroscopia de emissão por plasma induzido	41
2.2.8. Caracterização electroquímica	41
<b>Capítulo 3</b>	<b>43</b>
<b>Optimização reológica de uma suspensão de <math>\text{TiH}_2</math></b>	<b>45</b>
3.1. Procedimento experimental	45
3.1.1. Testes de sedimentação	45
3.1.2. Caracterização reológica da suspensão de $\text{TiH}_2$	46
3.1.3. Caracterização reológica da suspensão de $\text{TiH}_2$ na presença de k-carragenano	46
3.2. Resultados e discussão	46
<b>Capítulo 4</b>	<b>55</b>
<b>Processamento e caracterização das estruturas porosas de titânio</b>	<b>57</b>
4.1. Procedimento experimental	57
4.1.1. Processamento dos corpos porosos	57
4.1.2. Caracterização cristalográfica e morfológica	57
4.1.3. Porosidade e tamanho de poro	57

4.1.4. Caracterização mecânica à compressão	58
4.2. Resultados e discussão	59
<b>Capítulo 5</b>	65
<b>Revestimento, caracterização <i>in vitro</i> e caracterização electroquímica das estruturas porosas</b>	67
5.1. Procedimento experimental	67
5.1.1. Revestimento das estruturas porosas com um filme apatítico pelo método sol-gel	67
5.1.2. Caracterização <i>in vitro</i> das estruturas porosas	68
5.1.3. Influência do revestimento na resistência à corrosão	69
5.2. Resultados e discussão	69
<b>Capítulo 6</b>	83
<b>Conclusões e trabalhos futuros</b>	85
<b>Bibliografia</b>	87



# *Objetivos*



Um material de implante poroso com uma estrutura tridimensional aberta e propriedades mecânicas adequadas vai ao encontro de um material de substituição óssea. Neste tipo de estrutura a interconectividade dos poros permite a intrusão óssea servindo de suporte mecânico durante a regeneração.

É preciso no entanto que estas estruturas combinem as várias propriedades necessárias à regeneração óssea, nomeadamente biocompatibilidade, bioactividade, resistência mecânica e osteocondutividade.

As propriedades finais de uma estrutura dependem do material utilizado. Devido ao seu sucesso clínico, o titânio tem sido um dos materiais usados para a produção de estruturas porosas.

Embora seja biocompatível, a sua utilização apresenta limitações no que diz respeito à ligação osso-implante, uma vez que apresenta propriedades mecânicas que o tornam muito rígido quando comparado com as várias estruturas do tecido ósseo humano, originando a reabsorção óssea. Uma alternativa para ultrapassar estes problemas resulta da modificação da sua superfície por combinação de estrutura tridimensional e revestimento com fosfato de cálcio.

O presente trabalho tem como objectivo:

- i) a preparação de estruturas porosas de titânio, a partir de uma suspensão de  $TiH_2$ , pelo método de replicação de esponja;
- ii) caracterização microestrutural e mecânica de modo a avaliar se as estruturas produzidas mimetizam a arquitectura e propriedades do osso natural;
- iii) revestimento das estruturas porosas com hidroxiapatite e estudo do seu comportamento numa solução de plasma humano simulado. Esta etapa permite avaliar o comportamento *in vitro* das estruturas. Além disso, é ainda avaliada a influência do revestimento em termos da resistência à corrosão.



# *Capítulo 1*



## **Enquadramento do tema**

### **1.1. O Osso**

O osso é um tecido altamente complexo que permite muitas das funções de suporte no corpo [1]. Assim, o conhecimento da sua estrutura e das suas propriedades é de extrema importância quando se pretende conceber um biomaterial. Este sub-capítulo pretende abordar conceitos histológicos do tecido ósseo.

#### **1.1.1. Introdução**

O esqueleto, sistema importante para o corpo quer do ponto de vista biomecânico quer metabólico, é constituído por ossos individuais e por tecidos que permitem a ligação entre eles. O osso é o principal constituinte deste sistema e difere dos outros tecidos devido à sua rigidez e dureza. Estas características advêm dos sais inorgânicos impregnados na matriz óssea, consistindo em fibras de colagénio, uma grande variedade de proteínas não-colagénias e minerais [2, 3]. É esta rigidez e dureza que permite o esqueleto manter a forma do corpo; proteger os tecidos moles do crânio, cavidades torácicas e pélvicas; fornecer a estrutura para a medula óssea; e transmitir a força de contracção muscular de uma parte do corpo para outra durante o movimento. O conteúdo mineral do osso serve como depósito de iões, particularmente de cálcio, que também contribui para a regulação da composição do fluido extracelular. Ou seja, o osso é um material estrutural auto-reparador, capaz de adaptar a sua massa, forma e propriedades às mudanças mecânicas e metabólicas [2].

#### **1.1.2. Classificação do osso**

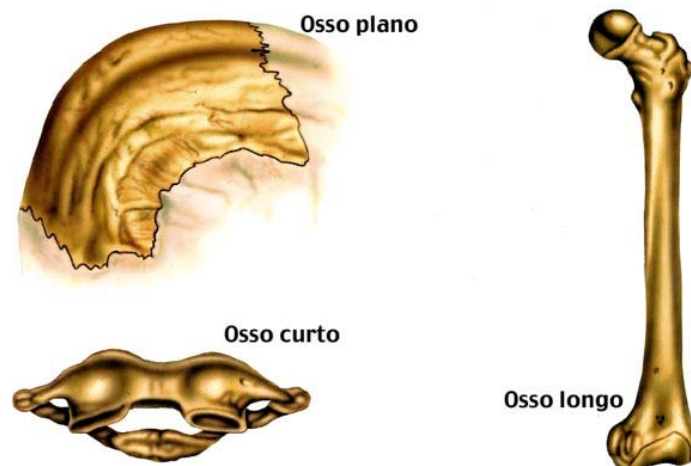
Os ossos podem ser divididos em dois principais grupos: o esqueleto axial e o esqueleto apendicular. O esqueleto axial é composto por 80 ossos, englobando o crânio, a coluna vertebral e as costelas. O esqueleto apendicular adulto é composto por 126 ossos que configuram os membros superiores e inferiores. Os ossos variam consideravelmente, de tamanho e formato, existindo quatro categorias gerais relativamente à forma, figura 1:

- ossos longos (ou tubulares): compõem a estrutura do esqueleto apendicular. São formados por uma diáfise, constituindo o corpo do osso, e duas epífises, nas extremidades. Possuem, ainda, uma cartilagem articular que tem a função de proteger as extremidades do desgaste pelo contacto com outros ossos;

- ossos curtos (ou cuboidais): têm uma forma que se aproxima da de um cubo e incluem apenas os ossos do carpo e do tarso. Possuem movimentos de deslizamento limitados e a função de absorver impactos;

- ossos planos (ou chatos): tal como o nome indica, tem um formato achatado, como é o caso das escápulas, costelas e alguns ossos do crânio. Possuem a função de proteger os órgãos internos e os tecidos moles, além de proporcionarem locais para a inserção de músculos e ligamentos;

- ossos irregulares: caracterizam-se por apresentarem formas diferentes e funções específicas, como é o caso das vértebras.



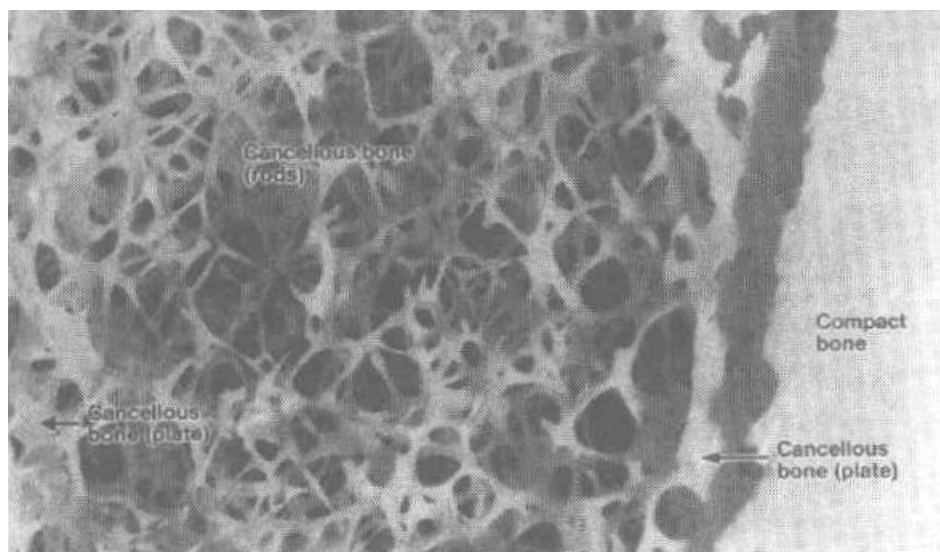
**Figura 1.** Classificação dos ossos quanto à forma [4].



Alguns ossos podem pertencer a mais de uma categoria, como é o caso dos ossos do punho, que são curtos e irregulares [5].

Os ossos podem ainda ser classificados quanto à sua porosidade em osso cortical (ou compacto ou lamelar ou denso) e em osso esponjoso (ou trabecular ou canceloso). O osso compacto é quase sólido, com 10% de porosidade, com espaços apenas para osteócitos, canaliculos, e vasos sanguíneos. Em contraste, o osso trabecular tem uma porosidade de 50-90%, que faz com que o módulo de elasticidade e a tensão máxima de compressão sejam 10 vezes menos que as do osso cortical [1]. Assim, a diáfise é constituída principalmente por osso cortical, enquanto que a epífise e a metáfise são compostas maioritariamente por osso esponjoso com uma fina camada exterior de osso cortical.

O osso cortical é um tecido bem vascularizado e mineralizado. Aproximadamente 80% da massa do esqueleto num adulto humano é osso cortical, responsável pelo suporte e protecção do esqueleto. Os restantes 20% de massa óssea dizem respeito ao osso esponjoso (figura 2). A distribuição destes dois tipos de osso varia fortemente entre os ossos individuais. Por exemplo, o cúbito é composta por 82% de osso cortical e apenas 8% de osso trabecular enquanto que uma vértebra típica é constituída por 62% de osso cortical e 38% de osso trabecular [2, 3, 6].



**Figura 2.** Morfologia do osso cortical e do osso trabecular [2].

É importante ressaltar que ambos os tipos de osso são anisotrópicos, o que quer dizer que oferecem graus de resistência e rigidez diferentes em resposta às forças aplicadas em diferentes direcções [5].

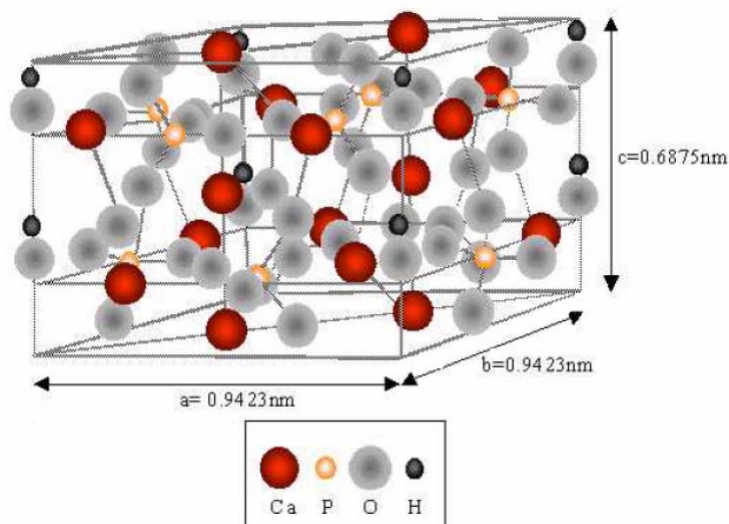
As características biomecânicas mais importantes dos ossos são a rigidez e dureza, ou seja, a capacidade de se deformar pouco com a carga e a alta resistência à carga axial, respectivamente. É importante entendermos que os ossos são muito fortes, mas quebram-se com a deformação. Assim, pode dizer-se que o osso resiste melhor às forças de compressão, porém a sua resistência é menor diante de forças de tensão. Fazendo uma analogia, o osso está mais para o vidro do que para a borracha [5, 7].

### **1.1.3. Composição do osso**

O osso é constituído por 65% de minerais, 35% de matriz orgânica, células e água. Contém grandes quantidades de catiões e aniões complexos, principalmente:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ . Outros iões, tais como  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$  e  $\text{Cl}^-$ , estão também presentes mas em quantidades mais pequenas. Devido ao aporte celular, também estão presentes pequenas quantidades de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , ácido ascórbico, ácido cítrico e polissacarídeos. Alguns átomos pesados, tais como  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ , podem ocasionalmente ser encontrados [8]. A presença destes elementos parece desempenhar um papel muito importante. Por exemplo, os iões  $\text{Mg}^{2+}$  são conhecidos por estarem intimamente relacionados com o metabolismo e com a fisiologia do corpo humano e também com o processo inicial da calcificação; os iões  $\text{Fe}^{2+}$  são indispensáveis à vida e contribuem para a prevenção da cárie dentária; os iões  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  existem no sangue e nos fluidos fisiológicos e estão associados com a homeostasia; os iões  $\text{CO}_3^{2-}$  existem inevitavelmente nos tecidos calcificados porque estes iões efectuem a regulação do pH dos fluidos fisiológicos na forma de tampão de bicarbonato e estão relacionados com a resistência à cárie dentária; os iões  $\text{F}^-$  previnem a cárie dentária [6].

Os iões cálcio e fosfato têm o papel principal na formação de sais, primeiramente trifosfato de cálcio e hidroxiapatite – ambos presentes na fracção mineral amorfa – enquanto que a fracção mineral cristalizada é praticamente constituída por hidroxiapatite [8].

A hidroxiapatite “modelo” é formada por átomos dos elementos químicos cálcio, fósforo, oxigénio, e hidrogénio, conforme mostra a fórmula da célula unitária:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , distribuídos espacialmente segundo um arranjo cristalino hexagonal como mostra a figura 3 [9].



**Figura 3.** Rede cristalina da hidroxiapatite [1].

Devido à similaridade química da hidroxiapatite com a fase mineral dos tecidos ósseos, ela é um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações de natureza química entre ela e o tecido ósseo (bioactivo), permitindo a proliferação de fibroblastos,

osteoblastos e outras células ósseas, as quais não a distinguem da superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial. A superfície da hidroxiapatite permite a interacção de ligações do tipo dipólo, fazendo com que as moléculas de água e, também, proteínas e colagénio sejam adsorvidos na superfície induzindo, assim, a regeneração tecidual [6].

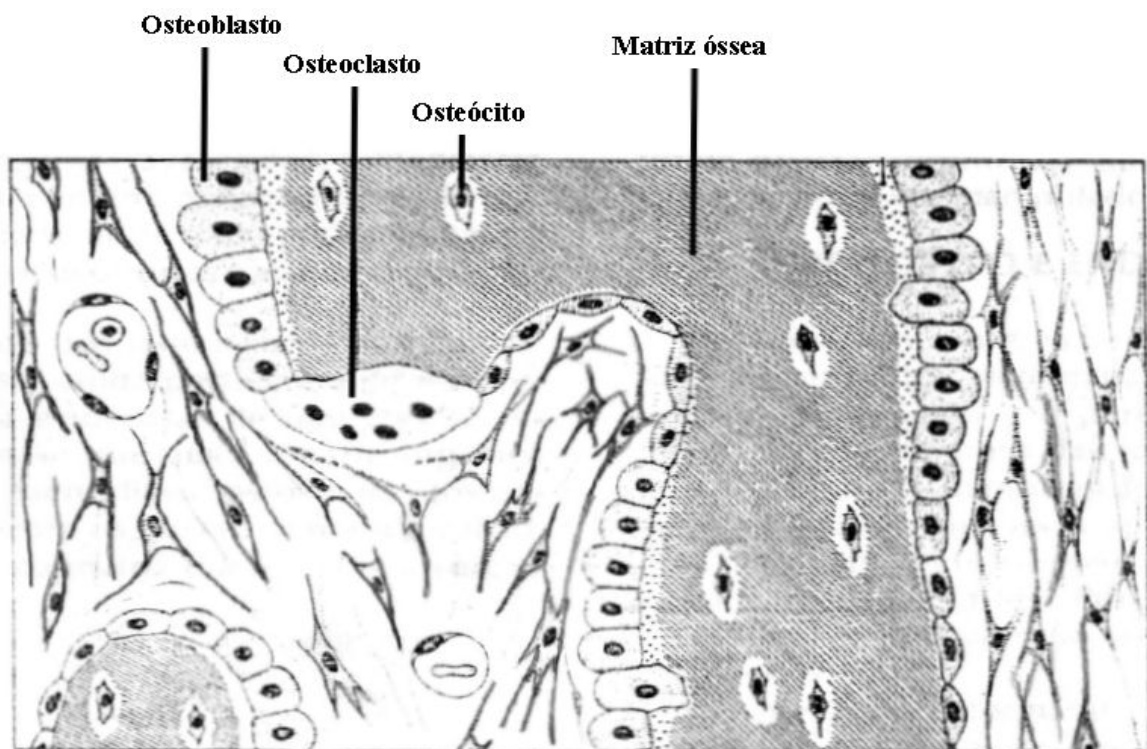
#### 1.1.4. As células do osso

O tecido ósseo, figura 4, é formado por três tipos de células (osteoblastos, osteócitos e osteoclastos) e por matriz mineralizada:

- osteoblastos: são as células responsáveis pela produção do tecido ósseo, capazes de concentrar fosfato de cálcio, participando na mineralização da matriz. Quando em plena actividade são cubóides ou piramidais, apresentando um núcleo grande;

- osteócitos: quando um osteoblasto pára a sintetização da matriz e fica embebido pelo osso, temos um osteócito. Aproximadamente 15% dos osteoblastos transformam-se em osteócitos. Embora nem todos os osteoblastos sobrevivam como osteócitos, todos os osteócitos tiveram a sua origem a partir dos osteoblastos. Com os seus prolongamentos ocupam as lacunas e canalículos do tecido ósseo; não apresentam capacidade proliferativa mas participam na manutenção do tecido ósseo e estão em comunicação com os outros osteócitos através de junções estabelecidas entre os prolongamentos de células adjacentes;

- osteoclastos: são células móveis, gigantes, multinucleadas, que contêm desde 1 até mais de 50 núcleos. Os osteoclastos segregam ácidos e enzimas capazes de destruir a matriz, sendo responsáveis pela reabsorção óssea [2, 10-13].



**Figura 4.** Composição do tecido ósseo [3].

### 1.1.5. Fractura e regeneração óssea

A formação de osso novo pode ocorrer por crescimento normal, o que acontece durante toda a vida até aos 50 anos, ou por crescimento induzido pela ocorrência de uma fractura [14].

O osso é um tecido único caracterizado pela capacidade que tem de se auto-reparar após ferimento. A consolidação ou cura de uma fractura ocorre com a formação do chamado calo de fractura cujo processo de formação, figura 5, pode ser dividido em 6 estágios:

- *hematoma*: imediatamente após a fractura há formação de um coágulo de sangue (hematoma) por ruptura dos vasos sanguíneos. O osso, agora desvascularizado, morre. O mesmo acontece com os componentes celulares do osso (osteócitos, medula óssea, etc.), deixando espaços vazios;

- *inflamação*: 1 a 7 dias após a fractura inicia-se o processo de inflamação, que permanece até que comece a ocorrer a formação de cartilagem ou de osso. As células envolvidas neste estágio são os neutrófilos polimorfonucleados, macrófagos e, mais tarde, fibroblastos;

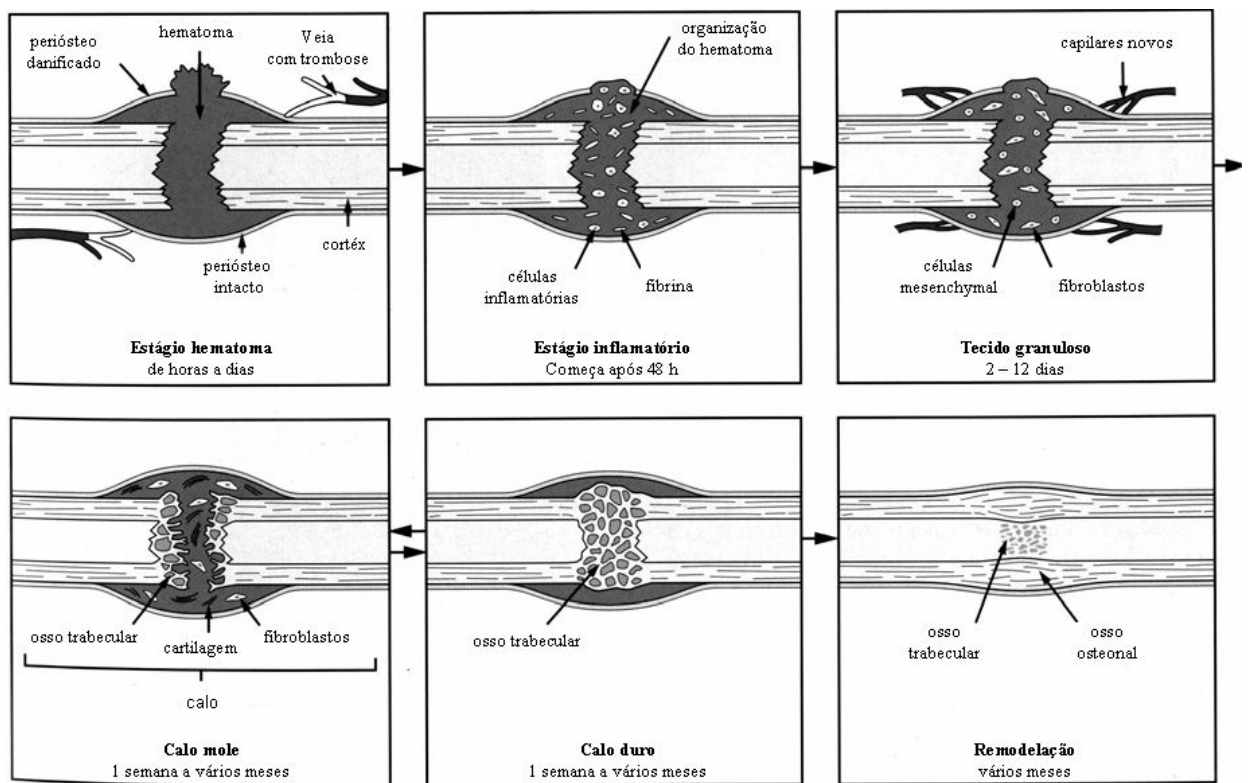
- *tecido granuloso (ou de granulação)*: é a fase de formação de tecido granuloso, que corresponde à evolução natural de qualquer dano tecidular e decorre da proliferação e estimulação de células mesenquimais multipotenciais (com capacidade de diferenciação em várias linhagens celulares);

- *calo mole*: este estágio ocorre 3 semanas após a fractura. Nesta altura os fragmentos começam a apresentar alguma estabilidade. O calo mole é caracterizado por um aumento na vascularidade e neocrescimento de capilares para dentro do calo da fractura e por um maior aumento na celularidade;

- *calo duro*: quando as extremidades da fractura estiverem unidas pelo calo mole, inicia-se o estágio de calo duro, estendendo-se até que os fragmentos estejam firmemente unidos por neoformação óssea (3 a 4 meses). O calo mole é convertido em tecido

calcificado e rígido por meio de ossificação endocondral e formação óssea intramembranosa;

- *remodelação*: este estágio dura até que o osso retorne completamente à sua morfologia original, incluído a restauração do canal medular. Este processo pode ir desde alguns meses até vários anos [7, 15, 16].



**Figura 5.** Estágios de consolidação de uma fratura [15].

A consolidação de uma fratura, embora seja um processo biológico, pode ser acompanhada por um tratamento não cirúrgico, por exemplo a utilização de gesso, ou cirúrgico, com recurso a implantes, dependendo da gravidade da situação [7]. O implante serve como uma malha onde ocorrerá a formação do novo osso. No caso de implantes

degradáveis a malha será reabsorvida e substituída pela deposição do novo osso. Este processo designa-se por osteointegração e depende não só das propriedades do implante mas também das características e capacidade regenerativa do osso hospedeiro [14, 17].

## **1.2. Biomateriais**

Os implantes biomédicos são usados para resolver patologias que não podem ser corrigidas pelo processo de cicatrização natural. O sucesso de um implante requer materiais com características específicas de acordo com a aplicação para o qual é concebido [18]. Aqui serão apresentadas algumas considerações gerais acerca dos biomateriais e requisitos a que devem obedecer.

### **1.2.1 Histórico**

A recuperação das funções fisiológicas dos órgãos internos é uma conquista recente da medicina, mas a substituição anatômica de partes do corpo tem raízes muito antigas. Desde a antiguidade egípcia que o Homem substituiu partes do corpo humano, como dedos, cujas próteses de madeira foram recentemente descobertas em múmias. A descrição mais antiga de uma prótese encontra-se no relato de Heródoto que, em 484 a. C., conta como um soldado persa, aprisionado pelo inimigo, fugiu depois de cortar o próprio pé, mais tarde substituído por um membro de madeira.

Durante a Idade Média foram feitas muitas próteses de ferro, construídas para os soldados pelos mesmos artificies que lhe faziam as armaduras. No séc. XIX ganharam adeptos as próteses de madeira, muito mais leves que as de metal, algumas já com movimento articulado.

O grande número de soldados amputados em resultado das batalhas do tempo da pólvora aumentou o interesse pela inovação neste domínio. Depois da Guerra Civil Americana a investigação na área das próteses foi promovida pelo Governo, ao mesmo tempo que a descoberta de anestésicos, como o clorofórmio e o éter, permitia a realização de cirurgias mais demoradas, que preparavam melhor os membros amputados para a colocação das próteses.

Os primeiros implantes sintéticos foram conseguidos com sucesso no limiar do séc. XX, utilizando-se na assistência a vítimas de fracturas. Depois da Segunda Guerra Mundial, e do extraordinário número de soldados amputados, a investigação conheceu um novo ímpeto, alimentado por estudos do movimento humano, que melhoraram o desenho dos membros artificiais. Entretanto, o aparecimento dos polímeros plásticos e o desenho



assistido por computador contribuíram de forma decisiva para o desenvolvimento das próteses mais modernas.

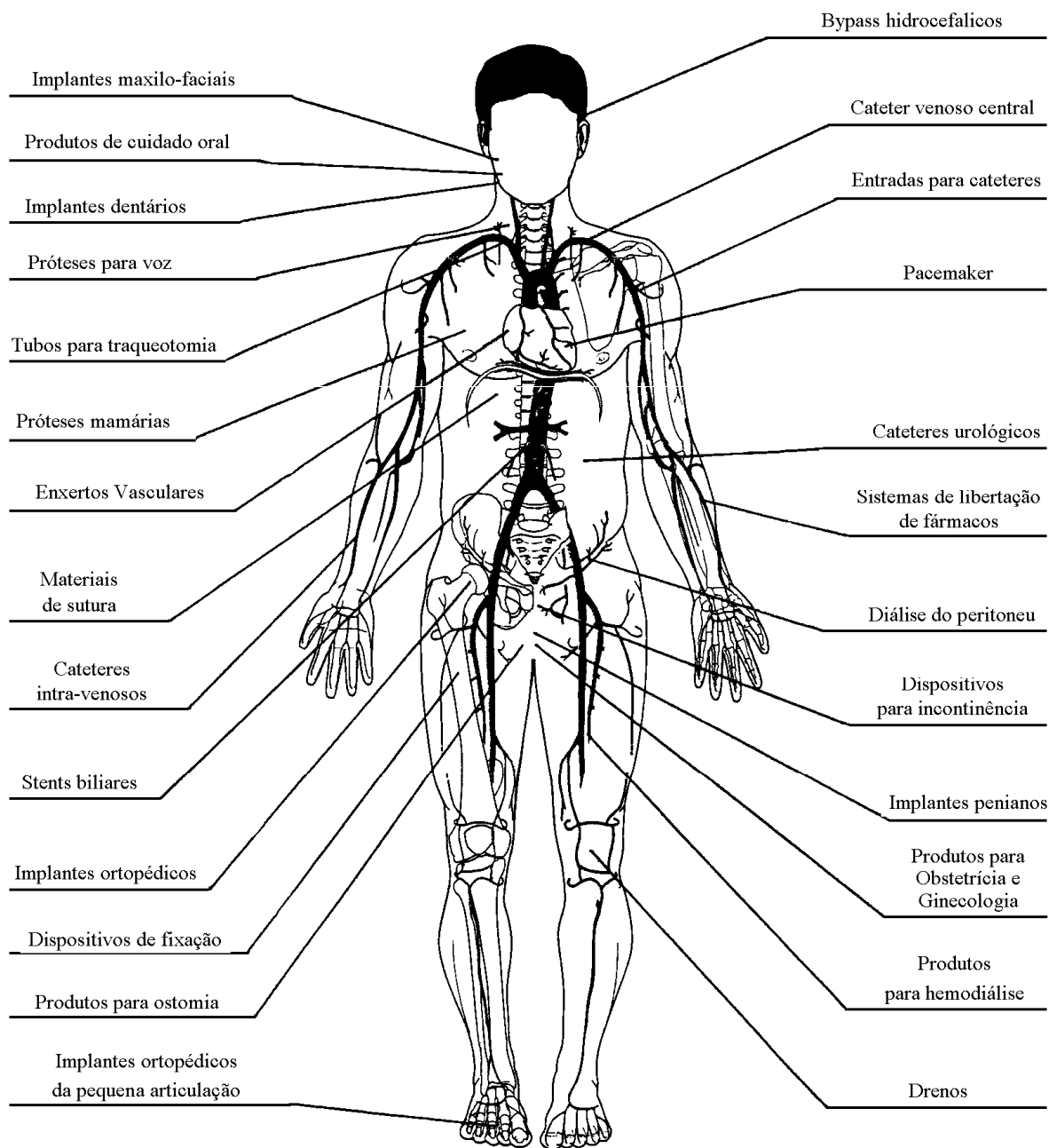
Nos anos 60 e 70 desenvolveu-se a primeira geração de materiais para utilização no interior do corpo humano. Procuravam-se materiais inertes, que minimizassem uma resposta negativa do corpo humano a esses objectos estranhos. Em meados dos anos 80 apareceu a segunda geração de materiais, como os vidros, cerâmicos e compósitos. Estes materiais bioactivos foram utilizados em várias próteses ortopédicas e dentárias [19].

### **1.2.2. Biomateriais: requisitos e aplicações**

A utilização de materiais artificiais em aplicações clínicas tem crescido muito nos últimos anos, tornando-se cada vez mais complexa e diversificada [20]. Na figura 6 referem-se alguns exemplos de aplicações dos biomateriais [22].

O termo biomaterial define todo o material concebido para contactar com o sistema biológico no sentido de diagnosticar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo [13]. Assim, de entre os materiais usados em aplicações biomédicas encontram-se:

- os metais, como o aço inoxidável, a platina, as ligas Co-Cr-Mo ou o titânio e suas ligas;
- os cerâmicos, como a alumina, a zircónia, hidroxiapatite, fosfatos tricálcico, vidros e vidros cerâmicos;
- os polímeros sintéticos, poliuretanos e poliésteres, ou naturais, como as proteínas;
- os compósitos, que resultam da combinação de alguns dos materiais anteriores [21, 23].



**Figura 6.** Exemplos das aplicações dos biomateriais [22].

A escolha do biomaterial mais adequado para a aplicação em causa depende das suas propriedades e dos requisitos inerentes à função que irá desempenhar. A sua caracterização

completa é um passo fundamental para o seu desenvolvimento [21]. Assim, a área científica dos biomateriais, tem, como seria de esperar, um carácter interdisciplinar, utilizando técnicas e conhecimentos dos mais variados ramos da engenharia (dos materiais, electrónica, metalúrgica, etc.), das ciências básicas (química, física, biologia, etc.) e da medicina, com vista a desenvolver novos biomateriais e/ou a aperfeiçoar os já existentes (aplicando revestimentos ou tratamentos à superfície, optimizando as suas propriedades mecânicas, físicas e químicas, etc.), e estudar o “design” adequado à função de cada material a implantar [13].

Uma vez que os biomateriais vão estar em contacto com os fluidos biológicos e com os tecidos vivos, devem apresentar certos requisitos fundamentais:

- biocompatibilidade: os biomateriais, quando implantados, estão em contacto permanente com ambientes bastante agressivos como eles próprios constituem um agente de agressão para o meio, não devendo, contudo, provocar reacções alérgicas ou inflamatórias, tóxicas ou carcinogénicas. No entanto, um material biocompatível, para uma dada função, pode ser inadequado se usado numa outra aplicação [20, 24].

- biofuncionalidade: é outra função que um biomaterial precisa possuir para desempenhar a sua função e define-se como a capacidade de cumprir a função desejada, pelo tempo desejado [25];

- bioadesão: é a propriedade relacionada com a ligação na região interfacial biomaterial/osso;

- propriedades mecânicas adequadas;

- processabilidade;

- esterilizável;

- preço baixo.

Assim, a selecção de um biomaterial deve iniciar-se com a identificação das propriedades requeridas para a aplicação em questão [20].

Para além das propriedades anteriormente descritas, uma característica importante de um biomaterial, após implantação, é o tipo de resposta biológica induzida pelo tecido hospedeiro na interface do material. De acordo com Hench et al. [26] existem quatro mecanismos que permitem classificar os biomateriais de acordo com o comportamento fisiológico em:

- biotoleráveis: materiais tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes devido à formação de uma cápsula de tecido fibroso;

- bionertes: todo o material que é posto em contacto com os tecidos vivos provoca uma resposta biológica destes tecidos sob o próprio material. Assim, a designação mais adequada seria a de quase-inerte, uma vez que nenhum material pode ser considerado inerte. Desta forma, os biomateriais quase-inertes são materiais também tolerados pelo organismo, mas em que a formação da cápsula fibrosa é mínima ou praticamente inexistente [26]. Como exemplo, temos a alumina,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , que foi o primeiro cerâmico a ser usado clinicamente [27-29];

- bioactivos: materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre o material e o tecido (integração). O tecido cresce sobre o material, verificando-se uma continuidade entre ambos. O mecanismo de ligação, a sua força e espessura da zona de ligação variam de material para material, podendo, no entanto, classificar-se a bioactividade de acordo com a velocidade de desenvolvimento da ligação interfacial. No caso dos implantes ósseos, um material bioactivo induz a formação de uma camada de apatite carbonatada biologicamente activa, sobre a sua superfície, criando um ambiente compatível com a osteogénese (crescimento ósseo). Esta interface mineralizada assegura a ligação entre o tecido vivo e o material de implante. A bioactividade dos materiais pode ainda dividir-se em osteoindutivo e osteocondutivo. A superfície de um material osteoindutivo é colonizada por células osteogénicas. Por outro lado, um material osteocondutivo apenas fornece uma superfície ao longo da qual o osso migra. Os principais materiais desta classe são os vidros

e os vidros cerâmicos à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatite e os compostos de fosfatos de cálcio [25, 26, 30];

- reabsorvíveis: materiais que, após certo período de tempo em contacto com os tecidos, sofrem uma degradação pelo organismo sendo substituídos por tecido ósseo [27-29]. Os produtos de degradação devem ser metabolicamente aceitáveis e a velocidade de degradação *in vivo* deve ser semelhante à velocidade de reparação dos tecidos vivos, para que o material mantenha a resistência e a estabilidade durante o período em que ocorrer a sua degradação e substituição por tecido ósseo [21, 27-29]. Este tipo de materiais tem especial interesse em aplicações clínicas uma vez que evita uma nova intervenção cirúrgica para que o implante seja removido. Os principais exemplos desta classe de materiais são o fosfato tricálcico (TCP) e o ácido poliláctico [25].

- porosos: os materiais porosos permitem ligações biológicas através do crescimento ósseo no interior dos seus poros. A fixação óssea conseguida com o uso deste tipo de materiais é mais resistente e diminui a possibilidade de ocorrência de movimento do implante. Uma vez que a vascularização não ocorre em poros de diâmetro inferior a 100 µm, estes devem ter dimensões superiores a 100-150 µm [27]. A existência de macroporos interligados desta ordem de grandeza permite albergar os componentes celulares e extra-celulares do tecido ósseo e dos vasos sanguíneos, garantindo-se o fornecimento de sangue e possibilitando um crescimento mais efectivo e saudável do tecido ósseo. No entanto, a resistência dos materiais diminui [27-29]. Os corais são exemplos de biomateriais porosos, utilizados frequentemente com êxito em cirurgia maxilofacial, odontológica, oftalmológica e ortopédica desde há muitos anos. A sua utilização recai maioritariamente na reconstrução craniana [31]. É uma substância natural produzida por invertebrados marinhos. A sua estrutura porosa interconectiva, semelhante à estrutura do osso trabecular, é excelente para o crescimento de tecido ósseo. A sua estrutura cristalina é principalmente constituído por carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), que é reabsorvido gradualmente transformando-se em hidroxiapatite. O coral puro e o coral transformado são utilizados para reconstruir e substituir tecido ósseo e também para corrigir vários defeitos ósseos [31, 32].

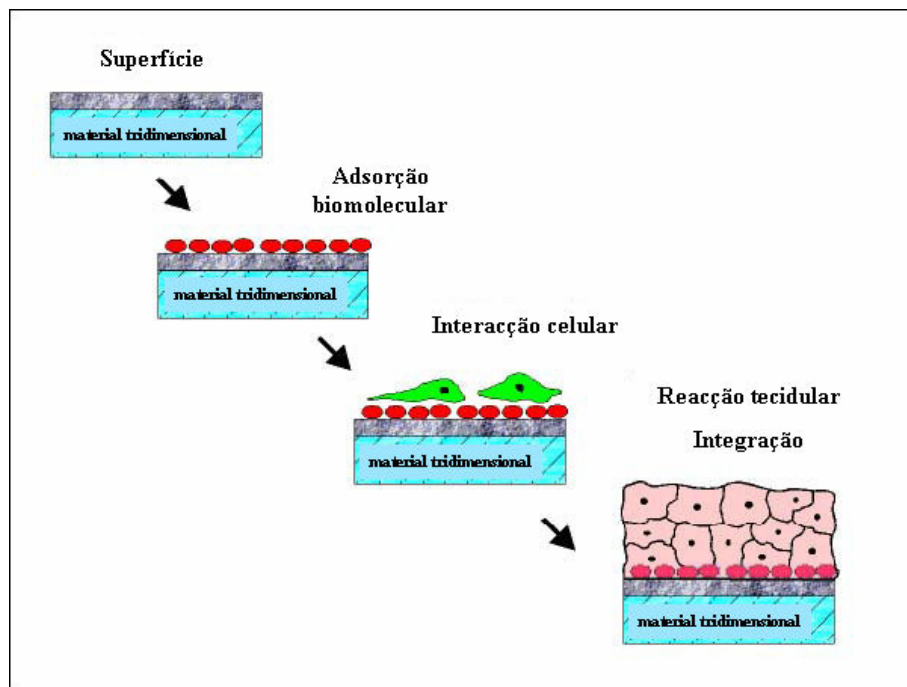
### **1.3. Estruturas metálicas porosas para osteointegração**

Apesar do titânio ter um sucesso clínico como material de implante em ortopedia e medicina dentária, existem ainda problemas relacionados com a interface implante-osso. De seguida serão descritas as propriedades e aplicações do titânio e as suas ligas e a forma de ultrapassar os problemas ainda existentes na sua utilização.

#### **1.3.1. Introdução**

Um factor importante a considerar na maioria das aplicações dos biomateriais é a forma como o material influencia e é influenciado pela resposta que resulta do seu contacto com o sistema biológico. Há presentemente uma escassez de conhecimentos que impossibilita a compreensão das interacções material-biosistema, principalmente as que ocorrem a nível molecular. Vários cenários têm sido propostos para as reacções que possam ocorrer quando a superfície de um material é posta em contacto com o sistema biológico. Pensa-se, frequentemente, que tudo começa com a adsorção de moléculas de água, iões (hidratados), e biomoléculas, os quais formam um “filme condicionante” na superfície do biomaterial. É com este revestimento biomolecular hidratado que as células dos tecidos nativos interagem. Com efeito, a estrutura e a composição da camada de proteínas adsorvidas determinam o tipo e a extensão das reacções biológicas subsequentes, tais como a activação da coagulação, a resposta imune e a osteointegração, figura 7 [33-35]. Assim, as propriedades da superfície de um material implantável constituem uma condição importante para a dinâmica da interface.

Com base em argumentos e conhecimentos gerais acerca das interacções molécula-superfície, as propriedades de superfície relevantes devem incluir, quer propriedades químicas, quer propriedades estruturais desde um nível macroscópico até um nível atómico. Este tipo de raciocínio acentua a importância das propriedades da superfície na resposta biológica dos biomateriais. Devido a tal concepção passou agora a atribuir-se uma particular atenção à preparação e caracterização da superfície dos biomateriais [33-35].



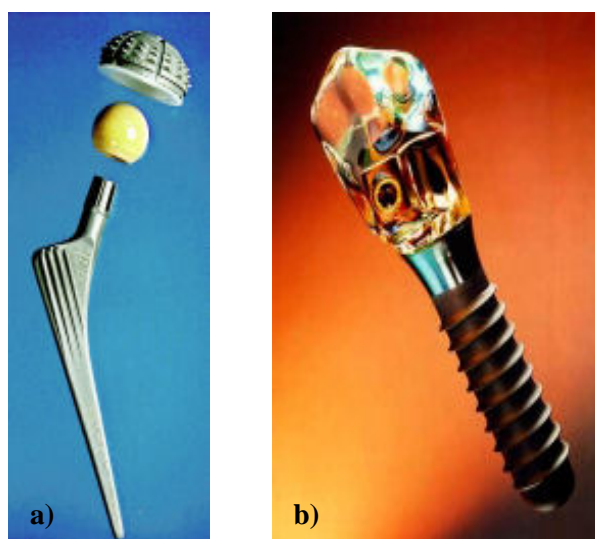
**Figura 7.** Resposta biológica à superfície de um biomaterial [33].

### 1.3.2. Titânio e suas ligas

O recente crescimento da taxa da população idosa leva a uma maior utilização de instrumentos artificiais feitos de biomateriais, em particular os de uso na substituição de tecidos duros danificados, figura 8, tais como próteses de anca, implantes dentários, etc. De entre os principais biomateriais metálicos, o aço inox, bem como o cobalto, crômio e o titânio e as respectivas ligas, têm sido os mais usados [36]. No entanto, o titânio e as suas ligas são os que têm recebido maior atenção devido à sua vasta gama de aplicações [36, 37].

O titânio e as suas ligas, principalmente a liga Ti-6Al-4V, são largamente usados numa variedade de aplicações de engenharia, onde a combinação das suas propriedades mecânicas e químicas apresenta uma crucial importância. A baixa densidade e o bom comportamento à corrosão têm incentivado investigadores a melhorar as suas propriedades mecânicas com vista a aplicações estruturais. O grande interesse no titânio e suas ligas teve início com a indústria aeroespacial e estendeu-se a outras aplicações, tais como química e

biomedicina [38, 39]. Infelizmente, devido a alguma instabilidade da sua superfície, a sua utilização em engenharia biomédica ficou limitada [38]. Os dispositivos biomédicos estão sujeitos a acções de desliz e fricção resultantes do contacto das superfícies articuladas durante o seu serviço. Esta particularidade origina tensões localizadas nas regiões de contacto, podendo provocar danos intensos na superfície. Adicionalmente, o desgaste na zona do implante pode progredir muito rapidamente, devido à combinação do efeito corrosivo do ambiente biológico e do desgaste mecânico na superfície danificada [40]. Assim, no caso da utilização da liga Ti-6Al-4V, pode ocorrer libertação dos elementos Al que é fortemente neurotóxico e de V que é citotóxico [41].



**Figura 8.** Implantes em titânio para aplicações médicas: a) prótese de anca; b) implante dentário [33].

O desgaste do titânio e suas ligas pode ser solucionado pela simples modificação da natureza da superfície [38, 42]. De acordo com as diversas necessidades, têm sido propostas várias técnicas de revestimento com o intuito de melhorar a resistência ao desgaste do titânio e suas ligas, tais como: evaporação, “sputtering” reactivo, deposição reactiva auxiliada por feixe de iões, deposição a laser pulsátil, processo de sol-gel,



deposição química de vapor e oxidação térmica [42-44]. De entre estas, a oxidação térmica em presença de oxigénio, tem-se mostrado promissora na produção de superfícies duras em titânio e suas ligas [38, 45].

Crê-se que as propriedades da superfície são responsáveis pelo desempenho favorável dos implantes de titânio, em particular a presença de um filme de óxido quimicamente estável que protege o material da corrosão [33]. Os tratamentos de superfície e os revestimentos têm sido desenvolvidos com o objectivo de prover uma rugosidade micrométrica, do tamanho das células ósseas, de modo a garantir a melhor possibilidade de osteointegração, ancoragem e estabilidade [46].

É frequentemente descrito na bibliografia que a resistência ao desgaste, a resistência à corrosão e a biocompatibilidade do titânio e suas ligas pode ser melhorada por oxidação térmica da sua superfície [42]. A elevada afinidade entre o oxigénio e o titânio promove, à temperatura ambiente, a formação de uma camada superficial de óxido, a qual é fina, muito estável, contínua e aderente. Quando o titânio é exposto ao ar a temperaturas elevadas, rapidamente oxida [45]. O oxigénio introduz-se no metal modificando-lhe as propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas. O óxido de titânio é conhecido por ter várias estequiometrias e os compostos comuns são  $Ti_3O$  a  $Ti_2O$ ,  $Ti_3O_2$ ,  $TiO$ ,  $Ti_2O_3$ ,  $Ti_3O_5$  e  $TiO_2$ . Isto é uma consequência do facto de o titânio existir em muitos estados de oxidação diferentes e de o oxigénio lhe ser altamente afim [42, 47].

De entre estes óxidos, o do tipo rutilo ( $TiO_2$ ), tem recebido especial atenção devido ao interesse nas suas propriedades físicas, químicas, mecânicas e biomédicas, o que o torna adequado para uma grande gama de aplicações [42]. O rutilo é também conhecido pelas suas extraordinárias propriedades ópticas e eléctricas, tais como elevado índice de refração, excelente transmitância óptica, elevada constante dieléctrica e excelente desempenho fotocatalítico [43].

Mais recentemente, descobriu-se que o rutilo tem boa biocompatibilidade, boa resistência ao desgaste e boas propriedades lubrificantes, facto que diminui o coeficiente de atrito entre partes em contacto. Estas características conferem-lhe potencial para aplicações tribológicas. Com tal potencialidade, tem sido explorado a fim de melhorar as propriedades tribológicas do titânio e suas ligas por oxidação térmica controlada da superfície de modo a formar uma camada fina e aderente [48, 49].

### **1.3.3. Estruturas porosas**

Como já vimos, o titânio e suas ligas são hoje em dia os biomateriais metálicos mais atractivos para aplicações em ortopedia e dentária devido às suas excelentes propriedades mecânicas e biológicas [50].

Há, contudo, problemas técnicos associados com o uso do titânio como material de implante. A elevada rigidez do titânio, comparada com a do osso circundante, pode originar problemas de blindagem de tensões e subsequente laxação do implante [51, 52]. Assim, a diferença de módulo de Young entre o osso (0,05-30 GPa) e os biomateriais metálicos maciços (entre 110 GPa para o titânio e 230 GPa para as ligas Co-Cr) tem sido identificado como a maior razão para a perda do implante [53].

Para fazer frente a estes problemas têm-se feito tentativas a nível de projecto do implante de modo a desenvolver materiais com uma superfície porosa tridimensional osteocondutiva para a regeneração óssea [52, 54]. A vantagem da utilização de materiais com a estrutura anteriormente descrita é a capacidade de permitir uma ancoragem biológica para os tecidos circundantes através do crescimento ósseo no interior dos seus poros [54]. Além disso, o valor do módulo de Young pode ser ajustado de modo a equiparar o do osso trabecular, limitando o efeito de blindagem de tensões e prevenindo assim a reabsorção óssea na interface do implante [52].

O fabrico de materiais porosos tem sido investigado activamente desde 1943, quando B. Sosnik [53] tentou introduzir poros no alumínio por adição de mercúrio no fundido. Em aplicações biomédicas o conceito do uso de materiais porosos foi investigado mais tarde, pelo que o trabalho de Weber e White de 1972 [53] foi um dos primeiros mencionando o uso de metais porosos para osteointegração. Numerosas investigações em materiais porosos iniciaram-se nos princípios de 1970s envolvendo materiais porosos cerâmicos, poliméricos e metálicos, os quais se mostraram, em estudos em animais, serem potenciais candidatos a implantes porosos que permitam o crescimento ósseo. Embora os cerâmicos possuam excelente resistência à corrosão, a opinião geral é de que as estruturas cerâmicas porosas não podem ser usadas em condições sujeitas a cargas, devido à sua fragilidade intrínseca. Também os sistemas poliméricos porosos não conseguem suportar esforços mecânicos. Isto leva a que os investigadores se centrem nos metais porosos,

nomeadamente os de titânio, como consequência da sua superior resistência à fractura e fadiga, propriedades que são requeridas para aplicações sob carga [52-55].

Assim, a matriz porosa tem que ser desenhada satisfazendo determinados requisitos de modo a mimetizar a arquitectura do osso natural. O material escolhido deve ser biocompatível e bioactivo. A estrutura porosa deve ser desenhada com uma elevada porosidade aberta e interligada, de modo a permitir espaço suficiente para a migração celular, ancoragem e proliferação de novo tecido ósseo, vascularização e transporte dos fluidos corporais [50, 56]. Deste modo, o tamanho de poro tem que ser adequado à reorganização óssea e vascularização e é reportado como óptimo no intervalo de 100-500  $\mu\text{m}$  [54].

Para a produção de estruturas porosas têm sido propostos vários métodos, tais como o uso de aditivos orgânicos, liofilização e replicação de esponjas poliméricas, entre outros. De entre os métodos existentes, o método de replicação de esponja polimérica tem-se mostrado o método mais efectivo para a produção de estruturas porosas com poros interligados, uma vez que é um processo simples e barato [56].

#### **1.3.4. Propriedades biológicas**

Como foi anteriormente referido, o titânio após longo tempo de implantação, pode interagir com o osso sem que se forme tecido fibroso. Este processo é chamado de osteointegração. O processo é, contudo, relativamente lento, e pode levar vários meses até que o implante esteja totalmente ligado ao osso. Além do mais, a osteointegração parece ocorrer apenas sobre fixação estável óptima e em locais que não suportam cargas [57].

Desta forma surgem os implantes de titânio poroso, descritos anteriormente, e usados desde 1960 em aplicações ortopédicas e dentárias. Este tipo de estrutura favorece a osteointegração uma vez que provê espaços de ancoragem para as células ósseas e para o aumento do tecido ósseo e vascular. O crescimento ósseo numa superfície porosa de um implante favorece a ligação mecânica na interface osso/implante e previne a sua falha [58]. Para além disto, e para se conseguir um crescimento ósseo mais rápido, através do espaço aberto do poro, e uma estabilização rápida e forte, mesmo sob condições desfavoráveis, têm-se desenvolvido métodos para revestir estes materiais com cerâmicos bioactivos, tais

como fosfato de cálcio (CaP), TCP ( $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), CCP ( $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) e hidroxiapatite (HA) [57-59].

A hidroxiapatite (HA) é um dos materiais mais inovadores e promissores em aplicações biomédicas, tendo sido usada em implantes ortopédicos e dentários devido à sua semelhança de composição química e estrutural com a fase mineral do osso [60-62]. Devido à sua baixa resistência à fractura ( $K_{IC}=0,5-1,5 \text{ MPa}\sqrt{m}$ ), não serve como material tridimensional de implante estrutural, sendo no entanto usada como revestimento para promover o crescimento ósseo [62]. O aperfeiçoamento da biocompatibilidade dado pelos revestimentos de HA é atribuído à similaridade química e biológica da HA com os tecidos, bem como à sua osteocondutividade. [63] Contudo, há ainda muitas preocupações acerca da aplicação dos revestimentos de HA, particularmente no que diz respeito à estabilidade a longo prazo. Uma das preocupações mais sérias é a reabsorção ou degradação destes revestimentos em meios biológicos, o que pode levar à desintegração do revestimento. A fixação do implante aos tecidos nativos é gravemente prejudicada se a taxa de dissolução da HA for demasiado rápida. Por outro lado, a osteointegração implante/tecido torna-se impossível se a adesão entre o revestimento e o substrato for fraca. Assim, a estabilidade e a integridade do revestimento deve ser considerada como uma prioridade em aplicações clínicas [64].

### **1.3.5. Técnica sol-gel**

Os revestimentos de hidroxiapatite têm sido obtidos pelo processo “plasma-spraying”. No entanto, existem alguns problemas associados a esta técnica, tais como: baixa resistência mecânica, falta de homogeneidade química e elevada porosidade dos revestimentos. A maioria destes problemas resulta da elevada temperatura de processamento e dos espessos revestimentos que são obtidos. Em comparação, a técnica sol-gel oferece vantagens na obtenção de filmes finos ( $< 10 \mu\text{m}$ ) e densos [65-66].

A possibilidade de modificar a área superficial, composição química, capacidade de adsorção e taxa de dissolução de uma superfície usando a técnica de sol-gel é muito atractiva no campo da medicina e da medicina dentária, pois constitui uma alternativa que apresenta vários benefícios: perfeito controlo da composição, baixa temperatura de

processamento, boa homogeneidade dos geles e facilidade de deposição do revestimento em vários substratos [58, 60].

O sol é constituído por uma suspensão de partículas coloidais (dimensão  $\sim 1-1000$  nm) num líquido, e o gel é formado por uma estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) que imobilizam a fase líquida nos seus interstícios.

As reacções químicas envolvidas num processo sol-gel podem ser divididas em 5 passos principais:

#### 1 – Hidrólise e policondensação

#### 2 – Gelificação

Com o tempo, as partículas coloidais ligam-se para formarem uma cadeia tridimensional. Nesta etapa, a viscosidade aumenta acentuadamente, dando-se a transformação do sol em gel (ponto de gelificação). Alternativamente, a gelificação pode ser produzida por evaporação rápida do solvente, como ocorre na preparação de filmes.

É importante não esquecer que as reacções que provocam a gelificação continuam a decorrer muito para além do chamado ponto de gelificação. Isto significa que o tempo de envelhecimento dos geles formados é um factor importante que vai influenciar as características do produto obtido. Durante o envelhecimento os geles vão retraindo, endurecer e frequentemente, fragmentam.

#### 3 - Envelhecimento

Este termo é aplicado ao processo de modificação estrutural e de propriedades após a gelificação, em que o gel é mantido à mesma temperatura a que ocorreu a sua formação. Ocorre durante o envelhecimento a retracção do gel, que é acompanhada de expulsão do líquido dos poros.

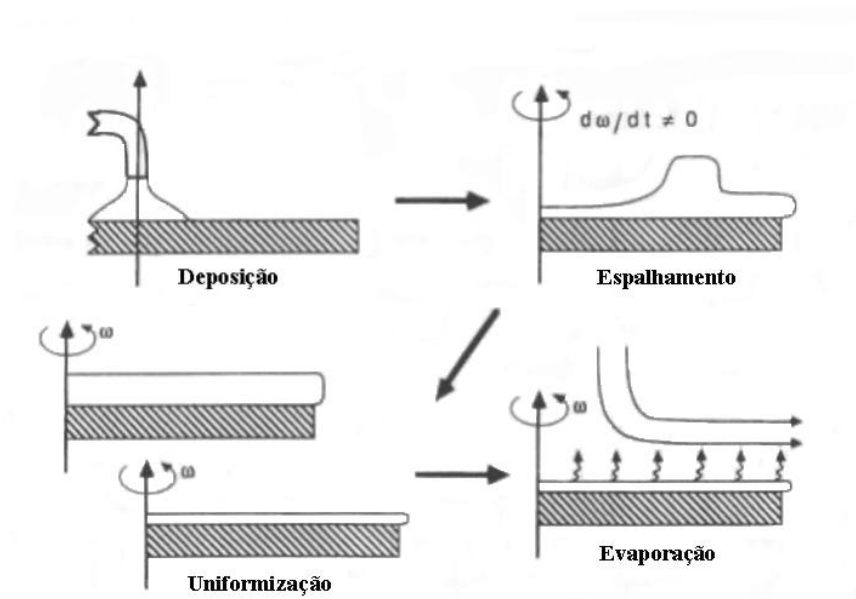
#### 4 – Secagem

Durante a etapa de secagem, o gel húmido é convertido num gel seco, designado xerogel, ocorrendo alguma retracção considerável. O processo de secagem tem que ser cuidadosamente controlado para que as tensões no gel não provoquem fissuras catastróficas.

## 5 – Densificação e cristalização

Muitos geles são amorfos após secagem. Se o objectivo do processo for a produção de um cerâmico livre de porosidade, será necessário um tratamento térmico ao gel a uma temperatura capaz de induzir a sinterização [66, 67].

A deposição de filmes finos sobre diversos substratos é uma das aplicações mais importantes do método dos alcóxidos. A principal vantagem deste método é a sua facilidade de realização prática aliada ao facto de não ser necessário equipamento sofisticado e dispendioso. Assim, a produção de revestimentos por este processo é normalmente obtida por técnicas de rotação, “spin coating”, ou de imersão, “dip coating”, embora a aplicação por outros métodos, tais como electroforese ou vaporização, seja igualmente possível. O revestimento por rotação é dividido em 4 etapas: deposição, espalhamento ou “spin up”, uniformização ou “spin off” e evaporação (figura 9).

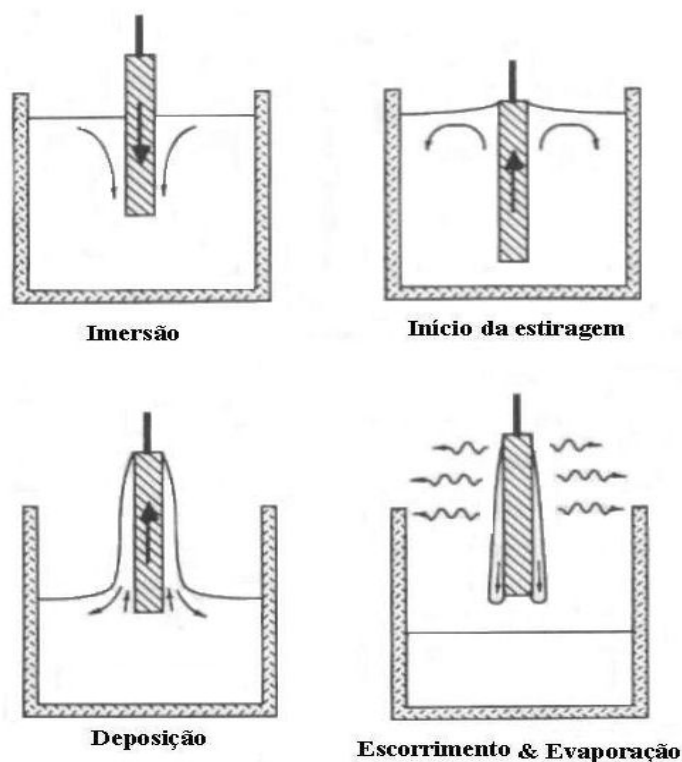


**Figura 9.** Etapas do processo de revestimento por rotação (“spin coating”) [66].

Na etapa de deposição é distribuído um excesso de precursor sobre a amostra, a qual é posta a rodar a uma elevada velocidade angular. O líquido flui radialmente por acção de

forças centrífugas em resultado da etapa de “spin up”, sendo eliminado o seu excedente durante a etapa de “spin off”. Após estas etapas ocorre a evaporação. Este processo de revestimento permite a obtenção de filmes com uma espessura uniforme. No entanto, a sua maior desvantagem para aplicações biomédicas deve-se ao facto de só ser aplicável em superfícies planas.

No caso de substratos com formas complexas, a técnica de revestimento por imersão tem tido maior interesse. Neste processo a amostra é mergulhada na solução que contém o precursor e depois retirada a uma velocidade constante, normalmente com a ajuda de um motor linear. O escoamento gravitacional e evaporação do solvente, acompanhado por reacções de condensação, resultam na deposição de um filme sólido. Para promover a densificação do filme efectua-se um tratamento térmico a uma temperatura que é determinada pela estabilidade térmica do substrato. A figura 10 mostra as etapas deste processo: imersão, início da estiragem, deposição e escoamento, escoamento e evaporação [66].



**Figura 10.** Etapas do processo de revestimento por imersão (“dip coating”) [66].





## *Capítulo 2*



## Materiais e métodos de caracterização

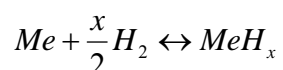
Neste capítulo é feita uma descrição dos materiais escolhidos para a preparação das estruturas porosas e das técnicas experimentais de caracterização usadas neste trabalho, realizadas na Universidade de Aveiro.

### 2.1. Materiais

#### 2.1.1. Hidreto de titânio

Alguns metais têm a propriedade de reagirem com o hidrogénio. Durante este fenómeno, as moléculas de hidrogénio são primeiramente adsorvidas na superfície do metal. Algumas destas moléculas dissociam-se em átomos de hidrogénio (H), os quais entram posteriormente na rede do cristal. O metal fica assim sobressaturado de hidrogénio precipita hidreto de titânio. A acomodação de grandes quantidades de hidrogénio é possível, daí que, em muitos hidretos, o número de átomos de hidrogénio no cristal possa ser duas ou três vezes o número de átomos de metal.

Por aquecimento, o hidrogénio pode ser libertado do interior do metal. O processo de absorção e desorção do hidrogénio é portanto reversível podendo ser representado pela seguinte reacção química:



onde Me representa o metal [68].

O hidreto de titânio tem-se mostrado uma matéria-prima muito atractiva para a produção de componentes de titânio, uma vez que a sua dissociação é possível a temperaturas baixas (300°C) [69, 70].

Para a realização deste trabalho utilizaram-se pós de TiH<sub>2</sub> com 98% de pureza, fornecidos pela empresa Aldrich, os quais foram caracterizados através das seguintes técnicas: DRX, Coulter e BET.

### **2.1.2. Meio dispersante e dispersantes**

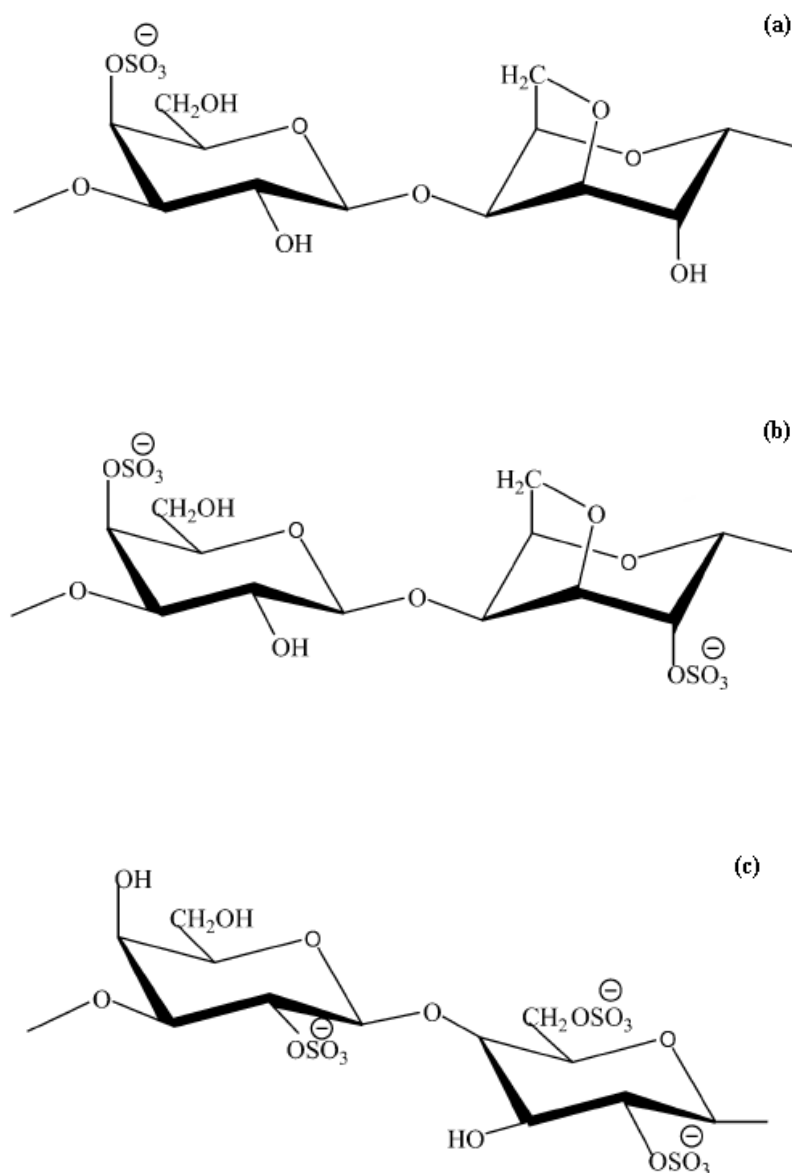
Uma vez que a técnica escolhida para a produção das estruturas porosas foi o método da replicação de esponja por infiltração, foi necessária a preparação de uma suspensão. As suspensões de pós de  $\text{TiH}_2$  usadas neste estudo foram preparadas em meio aquoso usando água ultra-pura.

A necessidade de trabalhar com suspensões muito concentradas (com elevada quantidade de sólidos), obriga a que a suspensão tenha uma fluidez adequada à sua manipulação durante o processamento. Podem melhorar-se as propriedades de processamento deste tipo de suspensões quebrando as ligações existentes entre as partículas, aumentando desta forma a fluidez do sistema. Os dispersantes (ou desfloculantes) são substâncias usadas para aumentar a fluidez de suspensões através do desenvolvimento de forças repulsivas entre as partículas, estabilizando-as em relação à reaglomeração. A escolha do tipo de dispersante mais adequado decorre de um estudo prático, caso a caso [71]. Neste trabalho foram utilizados os seguintes dispersantes: Dolapix PC 67, Dolapix CE 64 e Dispex A40.

### **2.1.3. k-Carragenano**

Nas últimas décadas, os polímeros naturais tais como xantana, agar-agar, carragenano e alginato de sódio [72, 73] têm recebido crescente atenção pela sua aplicação nas indústrias química, biomédica e alimentar [74, 75]. Um dos aspectos atraentes é a capacidade de formarem geles e actuarem como estabilizadores de suspensões [73, 76].

O carragenano é um polissacarídeo extraído de diferentes espécies de algas marinhas vermelhas [77] e é um copolímero alternado de  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-galactose e  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-anidro-D ou L-galactose [75]. Os tipos mais comuns de carragenano são as formas k-,  $\iota$ - e  $\lambda$ -, figura 11, e diferem no número e posição dos grupos sulfato, os quais são responsáveis pela capacidade que o carragenano tem de formar um gel termo-reversível em solução aquosa [75, 78]. As propriedades reológicas de suspensões que contêm carragenano são bem distintas; assim, os geles fortes são produzidos pelo k-carragenano enquanto que o  $\iota$ -carragenano permite a formação de geles fracos [78].



**Figura 11.** Representações estruturais do carragenano: (a)  $\kappa$ -, (b)  $\iota$ -, (c)  $\lambda$ - [78].

Neste trabalho utilizou-se um  $\kappa$ -carragenano fornecido pela empresa Fluka . Trata-se de um polissacarídeo solúvel em água a 80°C que tem a capacidade de formar um gel forte por arrefecimento de soluções pouco concentradas.

#### 2.1.4. SBF

Para os ensaios de mineralização em meio acelular preparou-se uma solução inorgânica simuladora da composição iônica do plasma humano, SBF (simulated body fluid), para qual é necessário a adição dos reagentes que a compõem segundo a ordem indicada na tabela 1, em água ultra-pura.

**Tabela 1.** Ordem de adição e quantidade de reagentes usados na preparação de SBF.

Ordem	Reagentes	Quantidade para 1L de solução
1	NaCl	7,996 g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,350 g
3	KCl	0,224 g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0,228 g
5	HCl (1 M)	40 mL ( $\approx$ 90% do volume total)
6	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,305 g
7	CaCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,548 g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,071 g
9	NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub>	6,057 g

A adição de HCl é feita antes da adição dos sais de magnésio e de cálcio impedindo a precipitação de fosfatos destes catiões. A adição do ácido faz baixar o pH para valores próximos de 1 mantendo-se até à adição do Tris, reagente 9, o qual faz subir o pH para valores próximos de 8. O acerto final do pH para valores entre 7,2-7,4 é feito pela adição restante do ácido.

Assim a composição da solução final em iões inorgânicos é semelhante à do plasma humano, tabela 2. A solução SBF, proposta por Kokubo et al [79], tem uma concentração iônica próxima da do plasma, com excepção das concentrações dos iões HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e Cl<sup>-</sup>.

**Tabela 2.** Concentrações iónicas, mol.L<sup>-1</sup>, no plasma humano e na solução sintética (SBF).

	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sup>3-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Plasma</b>	142,0	5,0	2,5	1,5	103,0	27,0	1,0	0,5
<b>SBF</b>	142,0	5,0	2,5	1,5	147,8	4,2	1,0	0,5

## **2.2. Métodos de caracterização**

### **2.2.1. Difracção de raios-X**

A caracterização cristalográfica dos pós de TiH<sub>2</sub> e das estruturas porosas, foi efectuada num difractómetro Rigaku Geigerflex D/max-SérieC, equipado com monocromador curvo de grafite, utilizando radiação CuK $\alpha$ .

### **2.2.2. Análise granulométrica**

A determinação do tamanho médio de partícula dos pós TiH<sub>2</sub> foi feita pelo método Coulter, em água. O equipamento utilizado (Coulter Counter LS 230 Particle Size Analyzer) permite medir partículas de 0,4 a 2000  $\mu$ m.

### **2.2.3. Área superficial específica**

A área superficial específica de um material define-se como sendo a área da superfície de uma partícula sólida por unidade de massa, usualmente expressa em m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>.

O método utilizado para a sua determinação foi a adsorção B.E.T. (Burnaeur-Emmet-Teller), que consiste em fazer passar um fluxo de uma mistura de gases (azoto e hélio) sobre a amostra, a uma temperatura próxima do ponto de ebulição do azoto. As partículas da amostra adsorvem à sua superfície uma camada monomolecular de azoto. A base matemática deste processo é a equação de B.E.T.:

$$\frac{\frac{P}{P_0}}{V_{ads} \times \left[ 1 - \left( \frac{P}{P_0} \right) \right]} = \frac{1}{V_m \times C} - \frac{(C-1)}{V_m \times C} \times \frac{P}{P_0}$$

onde  $P$  é a pressão a que ocorre o ensaio,  $P_0$  a pressão de vapor de saturação,  $V_{ads}$  o volume de gás adsorvido à pressão  $P$  e  $V_m$  o volume necessário para formar a monocamada.

Pela equação anterior determina-se o volume de azoto adsorvido à superfície de cada partícula. Sabendo o valor de  $V_m$  e a área ocupada por cada molécula, pode calcular-se a área superficial específica.

Os ensaios foram realizados num equipamento Gemini 2370 V5.00.

#### **2.2.4. Caracterização reológica**

A suspensão de  $\text{TiH}_2$ , usada para a produção das estruturas porosas, foi caracterizada num reómetro rotacional (Controlled-stress, Carrimed 500 CSL, UK), usando uma configuração geométrica cone-e-prato.

#### **2.2.5. Potencial Zeta**

De modo a avaliar a influência do dispersante escolhido na carga eléctrica superficial das partículas de  $\text{TiH}_2$  foi medido o potencial zeta num equipamento Coulter DELSA 440.

#### **2.2.5. Microscopia electrónica de varrimento e espectroscopia por dispersão de energia**

A microestrutura das estruturas porosas foi observada por microscopia electrónica de varrimento, SEM, com um microscópio da marca Hitachi modelo S4100.



O microscópio tem um sistema de emissão de campo com um filamento de tungsténio com potencial de aceleração de 25 kV e resolução máxima de 15 Å. Associado ao microscópio encontra-se um detector de raios-X para análise química qualitativa e semi-quantitativa de elementos, Rontec EDS System. Para permitir a análise por esta técnica as amostras foram fixadas com cola de carbono em porta-amostras de alumínio para SEM revestidas com carbono.

#### **2.2.6. Caracterização mecânica**

A caracterização mecânica inclui ensaios de resistência mecânica à compressão que permitem calcular o módulo de Young e tensão de cedência em compressão das amostras.

Os ensaios foram realizados numa máquina de ensaios mecânicos Shimadzu, modelo Autograph – série AG-A: AG-25 TA, a uma velocidade de teste de 1 mm.min<sup>-1</sup>.

#### **2.2.7. Espectroscopia de emissão por plasma induzido**

A espectroscopia de emissão por plasma induzido acoplado, ICP, é uma das técnicas mais importantes para análise elementar devido aos baixos limites de detecção, ao alto grau de selectividade e à razoável precisão e exactidão que permite.

As concentrações iónicas nas soluções usadas para os ensaios *in vitro* foram determinadas num espectrómetro Jobin Yvon JY70 Plus.

#### **2.2.8. Caracterização electroquímica**

As curvas de potencial em circuito aberto e de polarização que permitem avaliar a resistência à corrosão do revestimento foram determinadas usando um equipamento Radiometer Analytical Voltalab10 (PGZ 100).



## *Capítulo 3*



## **Optimização reológica de uma suspensão de $\text{TiH}_2$**

Para a utilização de uma suspensão é vantajoso ter uma boa dispersão e propriedades reológicas favoráveis [80]. O estado de dispersão de uma suspensão com elevada concentração em sólidos é muito importante, uma vez que determina a estrutura e várias outras características dos corpos em verde, para além de influenciar o processo de sinterização bem como as propriedades químicas e físicas do produto final [81, 82]. Comparando com a conformação a seco (ex. prensagem), os métodos coloidais permitem um empacotamento mais uniforme dos corpos em verde, o que leva a um melhor controlo microestrutural durante a etapa de sinterização [83].

Neste capítulo apresenta-se o estudo reológico de uma suspensão de hidreto de titânio com concentração máxima em sólidos e com propriedades reológicas favoráveis ao processamento de corpos porosos.

### **3.1. Procedimento experimental**

#### **3.1.1. Testes de sedimentação**

A observação visual do volume de sedimento de uma suspensão permite avaliar a estabilidade do sistema. A partir de um teste de sedimentação é possível determinar qual o dispersante e a respectiva concentração que permite obter uma suspensão com propriedades reológicas adequadas ao processamento em causa. Assim, para este estudo foi preparada uma suspensão com 2% (v) de sólidos em água, dividida por provetas de 10 ml às quais foram adicionadas várias concentrações de dispersante: 0,1; 0,3; 0,5 e 0,7% (m) (com base no peso de sólidos da suspensão). Cada proveta foi agitada para permitir a dispersão dos sólidos e deixada em repouso para avaliação da evolução do sedimento formado ao longo do tempo. Para termo de comparação foi preparada uma proveta sem adição de dispersante.

### **3.1.2. Caracterização reológica da suspensão de TiH<sub>2</sub>**

Depois de avaliado o agente que permitiu uma melhor dispersão da suspensão, procedeu-se ao estudo reológico de uma suspensão com uma concentração máxima de sólidos, que foi empiricamente determinada como sendo de 45% (v) de TiH<sub>2</sub>. Esta suspensão foi caracterizada a 20°C, para as diferentes concentrações de dispersante, a taxas de corte constantes no intervalo de 5 a 500 s<sup>-1</sup>.

### **3.1.3. Caracterização reológica da suspensão de TiH<sub>2</sub> na presença de k-carragenano**

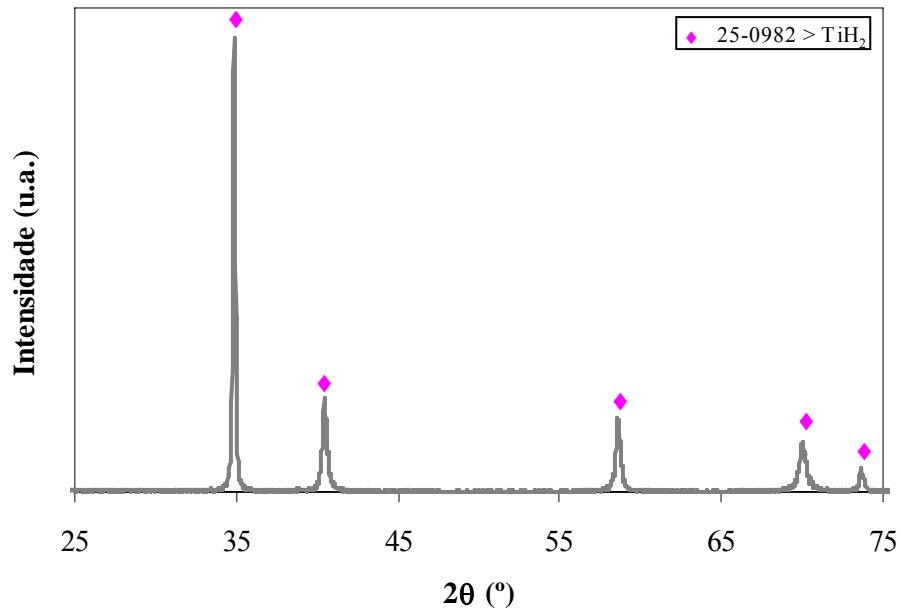
Além de uma boa dispersão, conseguida com o meio de suspensão escolhido e com a concentração de dispersante adequada, é ainda necessário assegurar a estabilidade da suspensão com o tempo. Para tal recorreu-se à introdução de gel de k-carragenano, cujas propriedades gelificantes e estabilizantes foram já mencionadas.

A influência do k-carragenano foi avaliada através de testes de sedimentação a partir de uma suspensão com 45% (v) de sólidos e diferentes concentrações do gel: 0,01; 0,03; 0,05; 0,07 e 0,1% (m).

## **3.2. Resultados e discussão**

Os pós de TiH<sub>2</sub> usados neste trabalho apresentam um tamanho médio de partícula de 15,60 µm e uma área superficial específica de 0,5336 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>.

A figura 12 mostra o espectro de raios-X dos pós de TiH<sub>2</sub>.



**Figura 12.** Difratograma de raios-X dos pós de  $\text{TiH}_2$ .

Os resultados da altura de sedimento obtida nos testes de sedimentação estão representados na figura 13, que permitiu avaliar a estabilidade de cada sistema em estudo, uma vez que a observação do volume de sedimento permite tirar rapidamente informações acerca do dispersante mais adequado.

De acordo com a Lei de Stokes, as partículas mais grossas tendem a sedimentar mais rapidamente, quando suspensas num meio líquido:

$$v = \frac{g(\rho_{\text{sólido}} - \rho_{\text{líquido}})}{18\eta_{\text{líquido}}} D^2$$

onde:

$v$  = velocidade de queda da partícula no líquido;

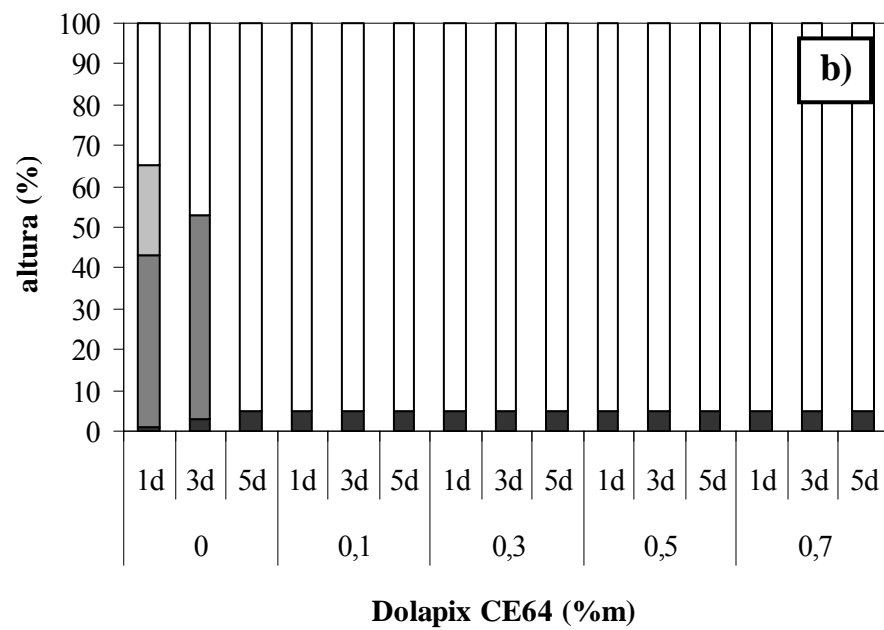
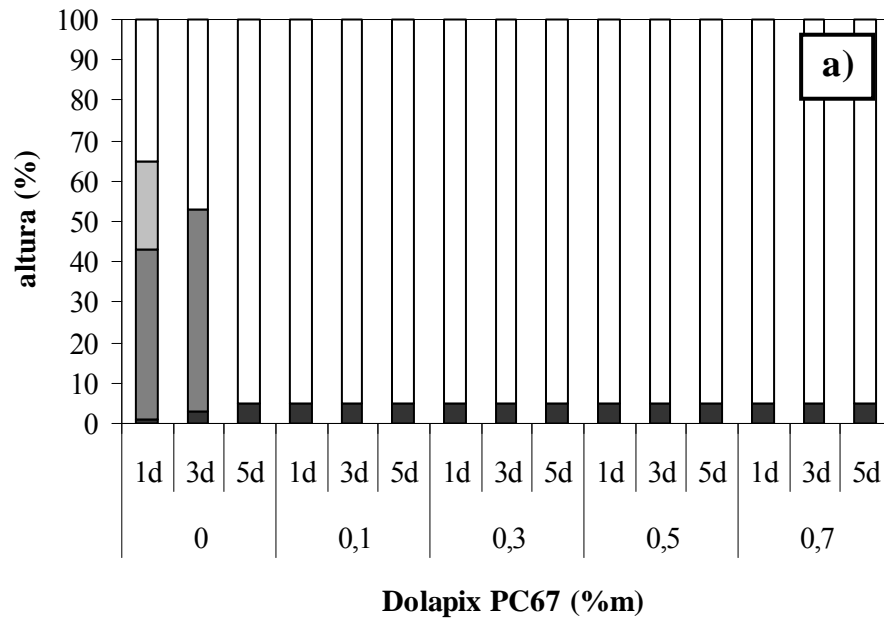
$g$  = aceleração da gravidade;

$\rho_{\text{sólido}}$  = densidade da partícula;

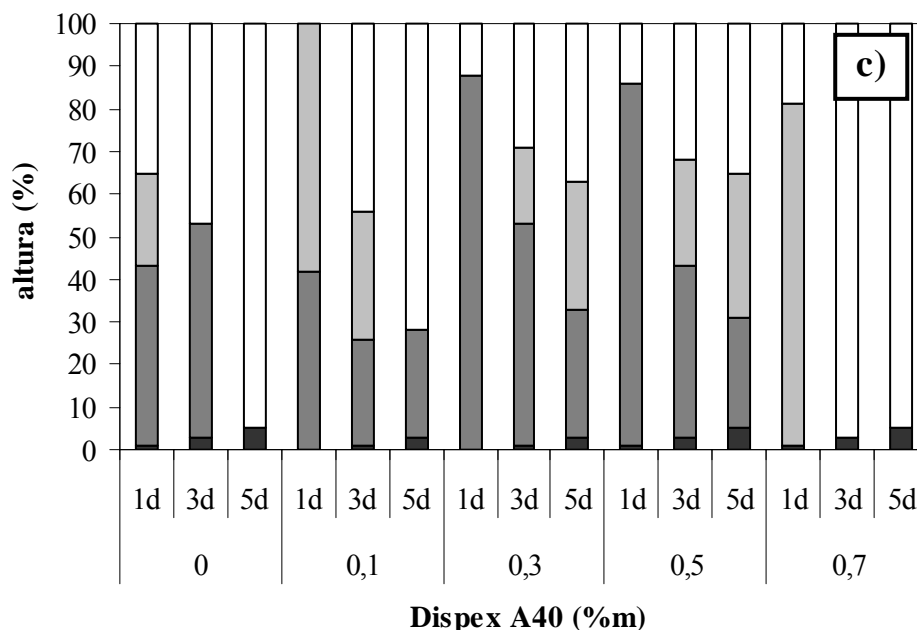
$\rho_{\text{líquido}}$  = densidade do líquido;

$D$  = diâmetro esférico equivalente da partícula;

$\eta_{\text{líquido}}$  = viscosidade do líquido [71].





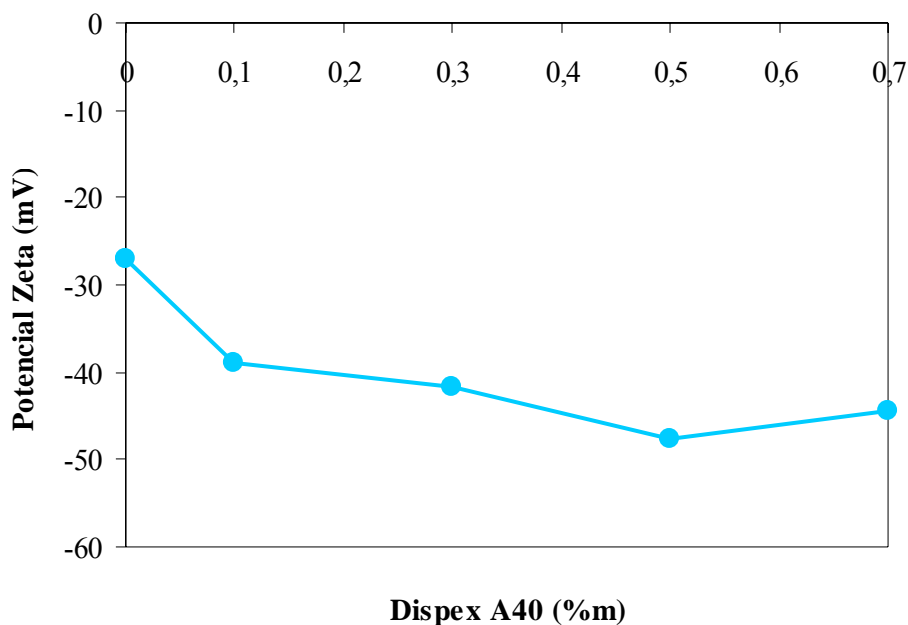


**Figura 13.** Evolução da sedimentação, com o tempo (d=dias), de suspensões com 2% (v) de  $TiH_2$  em água e diferentes concentrações de dispersante: 0; 0,1; 0,3; 0,5 e 0,7% (m); a) Dolapix PC67, b) Dolapix CE64 e c) Dispex A40. ■ Sedimento ■ Turvo ■ Menos turvo □ Límpido.

Para que a caracterização reológica de uma suspensão seja possível é necessário ter um sistema altamente estável, caso contrário a sedimentação é de tal maneira rápida que as medidas reológicas não se conseguem fazer. Esta situação é notória nos casos em que não foi usado nenhum dispersante e nos casos em que se usou Dolapix PC 67 e Dolapix CE 64. Para as suspensões preparadas com estes dispersantes os níveis de sedimento formam-se rapidamente com o tempo, originando uma observação típica de suspensão floculada [84].

Para estabilizar as partículas é preciso que na sua superfície se forme um filme por adsorção de moléculas do dispersante. A adição do dispersante a uma suspensão de partículas que se atraem modifica e inverte o sinal das forças de interação, provocando uma redução progressiva do estado de agregação das partículas [71]. Assim, é visível a actuação do dispersante Dispex A40 uma vez que a taxa de sedimentação diminui em comparação com a obtida nos outros casos.

A influência deste dispersante na carga superficial das partículas está representada na figura 14.



**Figura 14.** Potencial zeta em função da concentração de dispersante para uma suspensão com 2% (v) de  $\text{TiH}_2$ .

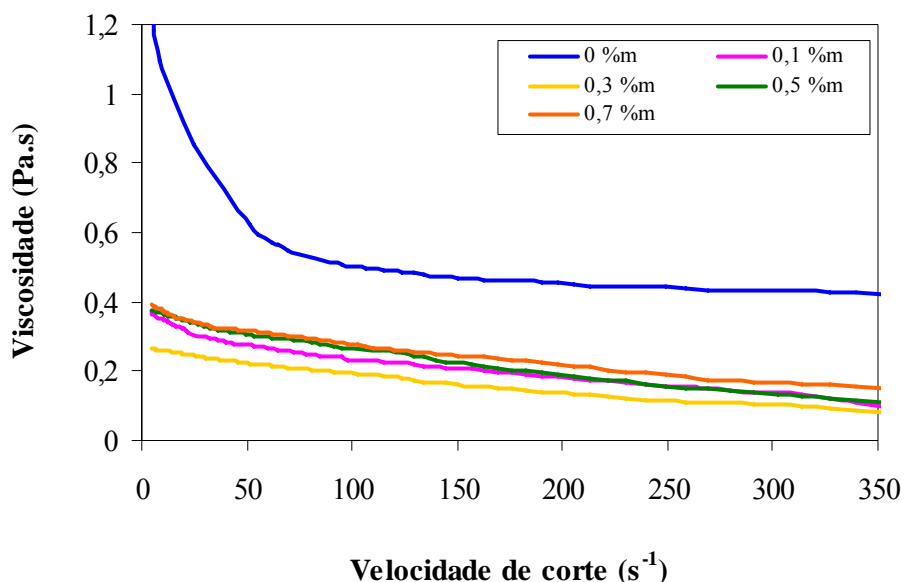
Os resultados de potencial zeta evidenciam que as partículas, sem adição de dispersante, estão carregadas negativamente. A adição de Dispex A40 aumenta a carga negativa superficial das partículas de  $\text{TiH}_2$  e, assim, a força de repulsão electrostática. A dada altura, a superfície das partículas está de tal modo negativa que a adsorção do dispersante na superfície não é mais possível.

Selecccionado deste modo o dispersante Dispex A40, preparou-se uma suspensão com uma concentração máxima de sólidos de 45% (v) para medidas de viscosidade, de modo a determinar qual a concentração de dispersante eficaz para esta carga sólida.

A figura 15 mostra a evolução da viscosidade com a taxa de corte.

Verifica-se que a suspensão tem um comportamento reo-fluidificante, isto é, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de corte, o qual é mais evidente a baixas taxas

de corte. Para taxas de corte elevadas o comportamento aproxima-se do Newtoniano, com tendência para viscosidade constante.



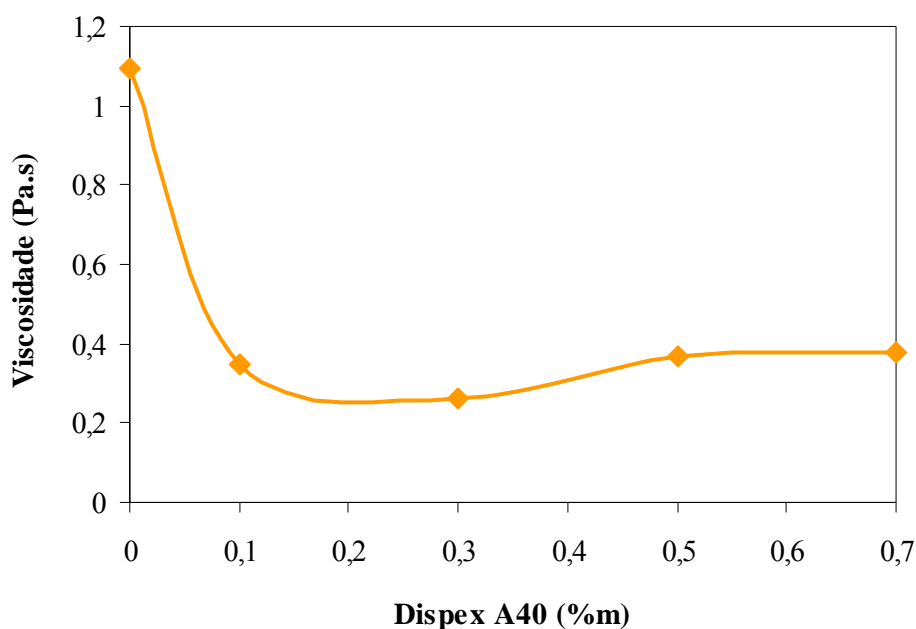
**Figura 15.** Evolução da viscosidade em função da velocidade de corte de uma suspensão com 45% (v) de  $TiH_2$  em água para diferentes concentrações de Dispex A40.

Quando colocadas em suspensão as partículas ficam sob o efeito de forças atractivas, as forças de Van der Waals. A baixas concentrações de sólidos a magnitude destas forças é menor devido à grande distância existente entre as partículas da suspensão. Assim, uma pequena concentração de dispersante pode, nestas condições criar forças repulsivas com uma magnitude suficiente para contrabalançar as forças de Van der Waals, e a frequência das colisões entre as partículas separadas (devido ao movimento Browniano) é menor. Contudo, é de notar que, devido ao insuficiente revestimento das partículas, este balanço não é totalmente estável, e a re-aglomeração a baixas concentrações de dispersante pode ocorrer, como mostraram os testes de sedimentação.

Com o aumento da concentração de sólidos a importância das forças de Van der Waals aumenta devido à diminuição da distância das partículas suspensas. Rapidamente se

formarão aglomerados se a quantidade de dispersante adicionada for insuficiente. Por outro lado, excessivas quantidades de dispersante apenas aumentarão a sua concentração em solução, conduzindo a um novo aumento da viscosidade da suspensão [85].

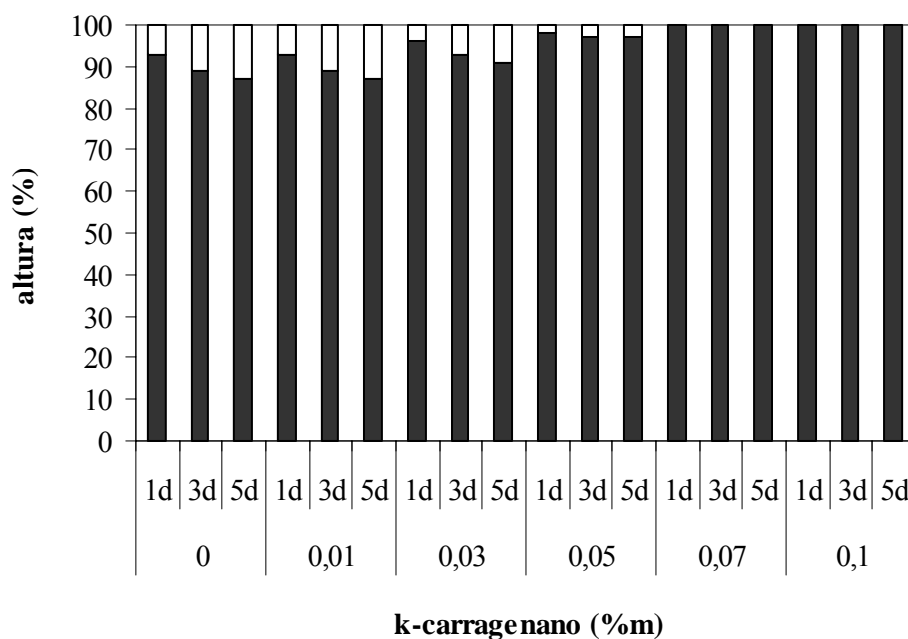
A situação anteriormente descrita é visível na figura 16, em que a viscosidade diminui até uma percentagem de dispersante de 0,3% (m), correspondente ao grau de desfloculação máximo permitido por este dispersante, aumentando para valores superiores [71].



**Figura 16.** Influência da concentração de dispersante no comportamento reológico de suspensões com 45-vol% de  $\text{TiH}_2$  em água.

Assim, é necessária uma quantidade de 0,3% (m) para se obter uma suspensão homogênea e com uma dispersão mais estável.

O estudo representado na figura 17 diz respeito à evolução da sedimentação ao longo do tempo de suspensões preparadas com diferentes concentrações de k-carragenano. Todos os resultados são comparados com uma suspensão que não contém o gel.



**Figura 17.** Evolução da sedimentação com o tempo (d=dias), de suspensões com 45% (v) de  $TiH_2$  em água, dispersa com 0,3% (m) de dispex A40 e diferentes concentrações de k-carragenano: 0; 0,01; 0,03; 0,05; 0,07 e 0,1% (m). ■ Sedimento □ Límpido

O aumento mais significativo da altura do sedimento com o tempo ocorreu para a suspensão com uma concentração de gel de 0,01% (m), o que mostra que a sua acção para esta concentração é praticamente nula. À medida que se aumenta a concentração, a altura de sedimento diminui até uma concentração de 0,07% (m), a partir da qual se mantém inalterado. Assim, estes resultados mostram que o k-carragenano em concentrações superiores a 0,07% (m) é eficaz na estabilização da suspensão. As propriedades espessantes e gelificantes do k-carragenano permitem a formação de uma estrutura de cadeias interligadas, que retêm as partículas, evitando a sedimentação [86, 87]. O aumento

da viscosidade das suspensões deve-se pois ao facto de a adição do k-carragenano formar um gel forte com o abaixamento da temperatura. Esta estrutura densa evita assim a sedimentação das partículas de  $\text{TiH}_2$  tornando a suspensão mais estável.

De acordo com o compromisso entre fluidez e gelificação para que se possa processar adequadamente as amostras, e com base nos resultados obtidos, uma suspensão contendo 45% (v) de  $\text{TiH}_2$  em água, 0,3%(m) de Dispex A40 e 0,07% (m) de k-carragenano satisfaz os requisitos necessários para o objectivo deste trabalho.

## *Capítulo 4*





## **Processamento e caracterização das estruturas porosas de titânio**

Após a determinação das propriedades reológicas adequadas ao processamento das estruturas porosas é necessária a sua caracterização estrutural e mecânica.

### **4.1. Procedimento experimental**

#### **4.1.1. Processamento dos corpos porosos**

Após determinação da suspensão com as propriedades reológicas adequadas, procedeu-se ao processamento dos corpos porosos pelo método de replicação de uma esponja, a qual é removida por queima durante o processo de sinterização. Após impregnação da esponja, as amostras foram colocadas a secar ao ar durante 24 h e tratadas termicamente, em forno de vácuo ( $10^{-6}$  mbar) a uma taxa de aquecimento de  $1^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  com patamares a  $500^{\circ}\text{C}$  durante 2 h e  $1000^{\circ}\text{C}$  durante 4 h.

As amostras foram processadas com as dimensões adequadas a cada técnica de caracterização.

#### **4.1.2. Caracterização cristalográfica e morfológica**

A composição estrutural dos corpos porosos foi avaliada por difracção de raios-X e a microestrutura observada por microscopia electrónica de varrimento.

#### **4.1.3. Porosidade e tamanho de poro**

A porosidade de 10 amostras foi calculada a partir do cálculo da densidade aparente usando a seguinte expressão:

$$P = \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_t}\right) \quad \text{e} \quad \rho_a = \frac{m}{V}$$

onde:

$m$  = massa da amostra;

$V$  = volume da amostra;

$\rho_a$  = densidade aparente;

$\rho_t$  = densidade do material 100% denso; neste caso trata-se da densidade do titânio (4,5).

Para determinar o tamanho médio de poro foram seccionadas 5 amostras, polidas com uma lixa de granulometria fina, #1200, e limpas em banho de acetona e álcool, em ultra-sons, durante 10 minutos. Por observação em SEM foram realizadas micrografias a baixa ampliação ( $\times 30$ ).

A quantificação do tamanho de poro resultou da determinação da largura média de cada poro – método das diagonais.

#### **4.1.4. Caracterização mecânica à compressão**

Para a caracterização mecânica das estruturas porosas foram realizados testes de compressão em 5 amostras com dimensões aproximadas de  $17 \times 8,4 \times 5,8$  mm. As amostras foram cortadas e lixadas em lixa de granulometria fina, #1200. Após passagem na lixa as amostras foram submetidas durante 10 minutos a banhos ultrassônicos de acetona e álcool, sucessivamente.

Os valores da força obtidos a partir do papel de registo do ensaio de compressão podem ser convertidos em valores de tensão nominal, o que permite construir um gráfico da tensão nominal ( $\sigma$ ) em função da extensão nominal ( $\varepsilon$ ):

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad \text{e} \quad \varepsilon = \frac{\Delta \ell}{\ell_0}$$

em que:

$F$  = força;

$A_0$  = área inicial da secção recta;

$\Delta \ell$  = variação de comprimento da amostra, em módulo;

$\ell_0$  = comprimento inicial da amostra.

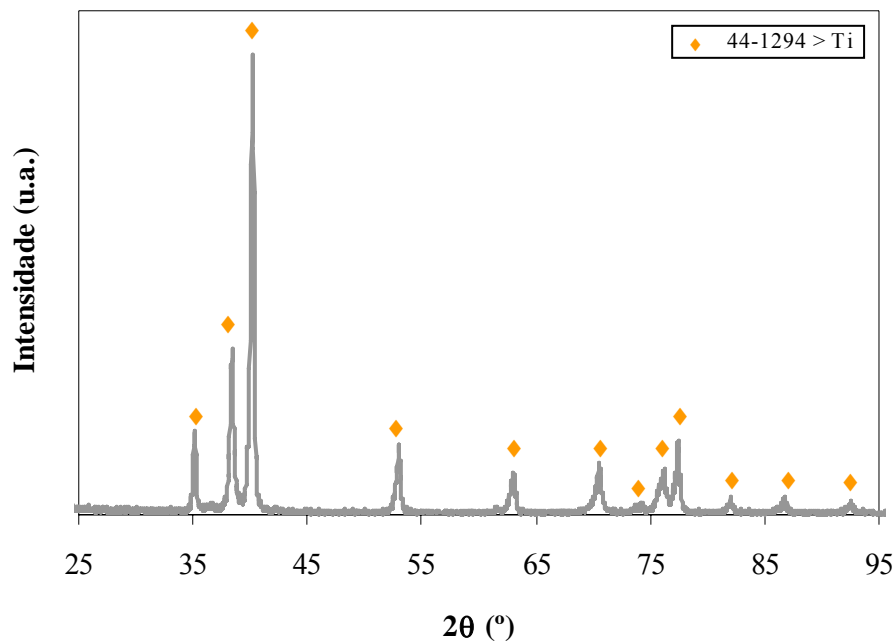
O módulo de Young,  $E$ , propriedade mecânica relevante neste estudo, é calculado a partir da região linear do diagrama tensão nominal - extensão nominal, segundo a lei de Hooke:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

#### **4.2. Resultados e discussão**

A caracterização cristalográfica das estruturas porosas está representada na figura 18, revelando uma estrutura composta totalmente por titânio.

Todo o hidreto de titânio foi convertido em titânio, durante o processo de sinterização, por libertação de hidrogénio, sem que tivesse ocorrido qualquer tipo de reacção contaminante entre a estrutura e a esponja. Além disso, as condições de vácuo foram favoráveis à produção das estruturas porosas evitando uma atmosfera oxidante. Devido à elevada afinidade entre o titânio e o oxigénio, caso as condições de vácuo não fossem as melhores, a estrutura final seria uma estrutura altamente fragilizada e com propriedades mecânicas inadequadas impedindo a sua utilização em qualquer tipo de aplicação, independentemente de estar sujeito a cargas ou não.

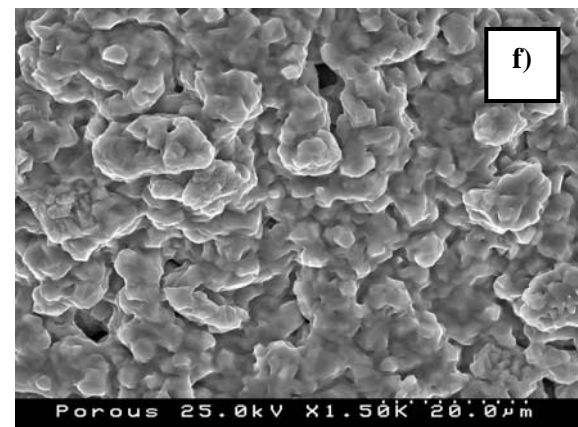
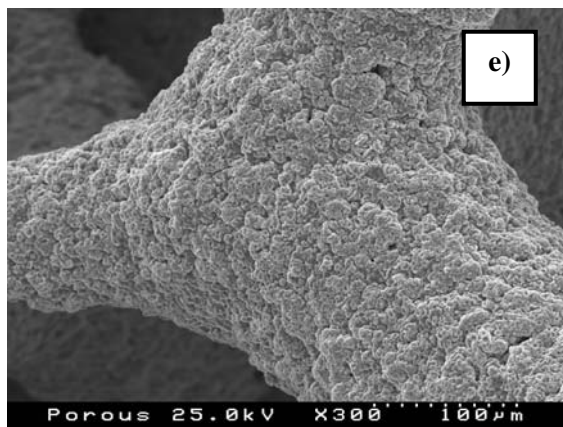
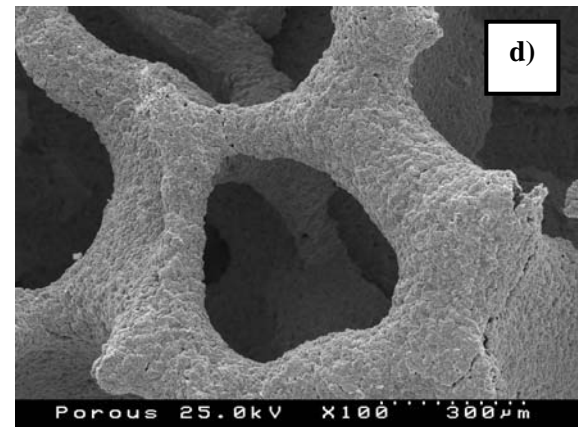
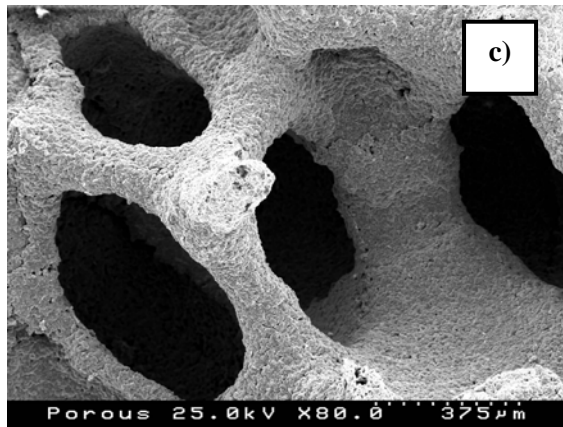
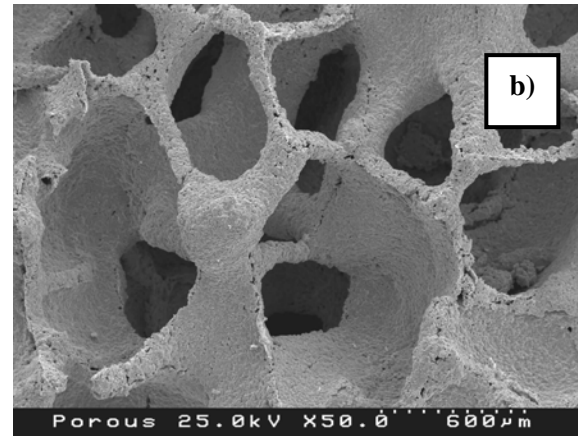
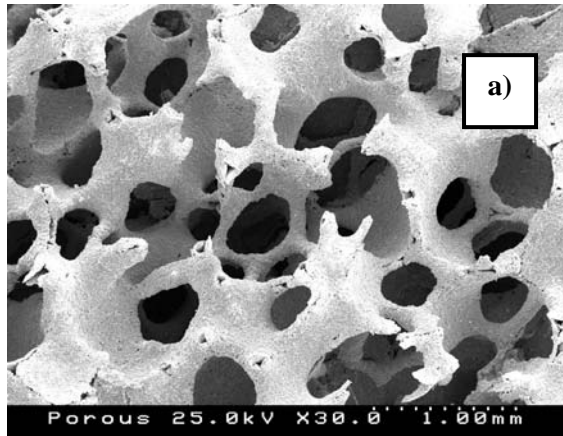


**Figura 18.** Difractograma de raios-X da estrutura porosa após sinterização.

De modo a permitir uma elevada densidade de colonização celular nos poros e promover a vascularização quando implantadas *in vivo*, estas estruturas devem possuir elevada porosidade, tamanho de poro adequado e elevada conexão entre poros [56].

A arquitectura das estruturas porosas de titânio obtidas é visível na figura 19. As imagens mostram uma distribuição homogénea de porosidade aberta, com bom grau de interligação.

Por observação das micrografias é possível detectar dois tipos de poros, macroporos e microporos. Os macroporos apresentam uma dimensão no intervalo 100-600  $\mu\text{m}$ , tabela 3, e uma forma aproximadamente esférica, especialmente produzidos para que através deles ocorra o crescimento ósseo e se dê o transporte dos fluidos corporais [88]. Simultaneamente, também se formam nas paredes da estrutura porosa alguns microporos e que poderão estar associados a volumes de contracção durante o processo de remoção da esponja e sinterização dos pós de  $\text{TiH}_2$ .



**Figura 19.** Micrografias de SEM mostrando a arquitectura das estruturas porosas após sinterização.

O tamanho mínimo dos poros encontra-se no limite inferior necessário para a utilização em implantes ortopédicos, que é de 100  $\mu\text{m}$ , enquanto que o tamanho máximo ultrapassa o valor reportado, 500  $\mu\text{m}$  [54]. No entanto, estes valores podem ser ajustados pela escolha de uma esponja que permita uma diferente distribuição de tamanho de poro.

As trabéculas da estrutura apresentam uma superfície rugosa e com microporosidade. Estas características têm sido descritas como representando um papel importante no processo de formação do tecido ósseo, uma vez que são favoráveis à colonização, adesão celular, proliferação, diferenciação e intrusão ósseo [54].

As estruturas preparadas por este método apresentam uma porosidade média de aproximadamente 75%, tabela 3, comparável com a porosidade do osso trabecular.

**Tabela 3.** Valores médios de porosidade e tamanho de poro das estruturas porosas.

$P$ (%)	$\bar{p}$ ( $\mu\text{m}$ )
$74.96 \pm 2.62$	100-600

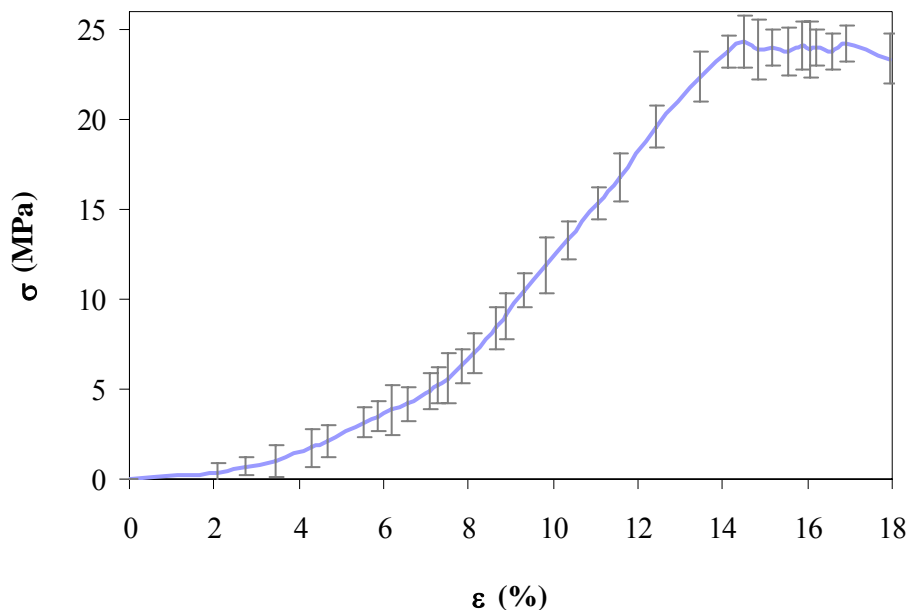
em que:

$P$  = valor de médio porosidade calculado a partir da densidade aparente;

$\bar{p}$  = valor de médio do tamanho de poro obtido por SEM.

A figura 20 representa o comportamento típico das estruturas porosas à compressão.

Após uma fase de acomodação é possível distinguir três regiões nas curvas de compressão. A primeira região é caracterizada por uma resposta elástica, onde se observa uma relação linear entre a tensão e a extensão. De seguida, é possível observar uma região onde ocorre a oscilação da tensão, altura em que a carga aplicada excede o limite suportável pela estrutura porosa, começando a ocorrer o esmagamento por colapso dos poros. Por último, observa-se uma região onde a tensão diminui lentamente, conduzindo à fractura das amostras.



**Figura 20.** Curva nominal de compressão tensão-extensão das estruturas porosas com uma porosidade de 75%.

As propriedades mecânicas à compressão, tensão de cedência e módulo de elasticidade ou de Young, foram calculadas a partir da região linear desta curva e estão representadas na tabela 4, em comparação com os valores para o titânio denso e para o osso. A tensão de cedência é uma propriedade muito importante uma vez que exprime o início do colapso das estruturas porosas.

As preocupações quanto às propriedades mecânicas dos biomateriais metálicos advêm do seu elevado módulo elástico quando comparado com osso, provocando blindagem de carga e eventual reabsorção óssea. Apesar de o titânio possuir um módulo de elasticidade inferior aos outros materiais metálicos usados como substituição óssea, o seu módulo de elasticidade é ainda demasiadamente grande quando comparado com o osso [89].

A incompatibilidade mecânica entre a rigidez estrutural dos materiais de implante e o osso tem sido objecto de preocupação e levado muitos investigadores a preocuparam-se em ultrapassar esta diferença, nomeadamente com a produção de estruturas totalmente porosas, como é objectivo deste estudo.

**Tabela 4.** Propriedades mecânicas, em compressão, das estruturas porosas, do titânio puro e do osso [89, 94].

<b>Materiais</b>	<b><math>\sigma_{\text{comp}}</math> (MPa)</b>	<b>E (GPa)</b>
Estruturas porosas	23,72±1,12	0,30±0,003
Titânio	450-965	100-110
Osso cortical	80-120	3-30
Osso trabecular	2-12	0,05-0,5

De acordo com os resultados expressos na tabela 4, os materiais porosos produzidos neste trabalho apresentam uma tensão de cedência à compressão de 23,72 MPa e módulo de elasticidade de 0,30 GPa valores que se aproximam dos valores do osso trabecular.

Alguns trabalhos reportados na literatura apresentam os seguintes valores para tensão de cedência e módulo de elasticidade os quais são apresentados na tabela 5.

As variações das propriedades mecânicas obtidas neste trabalho em comparação com a literatura estão relacionadas com a porosidade, tamanho de poro e com a técnica de processamento das estruturas.

**Tabela 5.** Propriedades mecânicas, em compressão, de estruturas porosas, reportadas na literatura [54, 88, 94, 95].

<b>Estruturas porosas</b>	<b>Método de fabrico</b>	<b><math>\sigma_{\text{comp}}</math> (MPa)</b>	<b>E (GPa)</b>	<b>P (%)</b>
Ti	Projecção plasma	85	4,7	40
	Metalurgia de pós	40	2,87	80
Ti6Al4V	Replicação de esponja	10,3	0,8	90



## *Capítulo 5*



## **Revestimento, caracterização *in vitro* e caracterização electroquímica das estruturas porosas**

O revestimento de um material para implante com um filme apatítico promove a sua bioactividade e o crescimento ósseo é mais rápido [96]. Além disso, resultados electroquímicos mostram que um revestimento apatítico na superfície do titânio melhora a sua resistência à corrosão [97].

Neste capítulo, as estruturas porosas serão revestidas internamente por um depósito de fosfato de cálcio. O comportamento mineralizante será avaliado *in vitro* por imersão numa solução simuladora dos fluidos corporais (SBF) e a resistência à corrosão será avaliada por um método electroquímico.

### **5.1. Procedimento experimental**

#### **5.1.1. Revestimento das estruturas porosas com um filme apatítico pelo método sol-gel**

Na preparação da solução gelificável utilizaram-se como precursores de Ca e P o nitrato de cálcio tetra-hidratado,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , e o dietilfosfito,  $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{POH}$ , respectivamente. As quantidades dos reagentes foram determinadas de modo a ter-se uma razão atómica Ca/P=1,67. Os reagentes foram misturados em água ultra-pura e a solução foi deixada a envelhecer durante 2 horas ao ar, com agitação. Para posterior revestimento, as estruturas porosas foram lavadas em acetona e álcool durante 10 minutos, em banho de ultra-sons. A deposição foi em seguida realizada por imersão, a uma velocidade de 6  $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$ , com um equipamento de “dip-coating”. Após 5 minutos na solução as amostras foram retiradas à mesma velocidade e secas durante 5 minutos numa estufa de ar a 110°C. O procedimento de deposição e secagem foi repetido cinco vezes. Seguiu-se o tratamento térmico do revestimento ao ar, a 700°C, durante 3 horas, a uma taxa de aquecimento de 1°C/min.

Após tratamento térmico o revestimento foi caracterizado por SEM e a razão Ca/P determinada por EDS.

### 5.1.2. Caracterização *in vitro* das estruturas porosas

O comportamento de um material imerso em SBF, é um primeiro indicador da sua bioactividade, traduzida na formação de uma camada superficial apatítica, com composição semelhante à da apatite biológica. A tabela 6 apresenta a fórmula e relação molar Ca/P de algumas das fases de fosfato de cálcio conhecidas.

**Tabela 6.** Fosfatos de cálcio.

Fosfato de cálcio	Fórmula	Razão Ca/P
Hidrogenofosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Hidrogenofosfato de cálcio anidro (DCPA)	$\text{CaHPO}_4$	1,00
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Fosfato Tricálcico (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
Hidroxiapatite (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67

O estudo *in vitro* dos materiais requer condições de assepsia. Para tal, as amostras foram esterilizadas por radiação ultra-violeta durante 10 minutos, os recipientes de polipropileno usados nos ensaios foram adquiridos já esterilizados e as soluções foram filtradas através de um filtro estéril com 0,20 µm de tamanho de poro.

As amostras, com 10×10×5 mm, foram colocadas nos recipientes fechados contendo 10 mL de solução SBF e deixadas numa estufa a 37°C, sob agitação, por períodos de 1, 3 e

7 dias. Após cada ensaio as amostras foram removidas da solução e lavadas com água ultra-pura.

A análise das estruturas porosas após os diferentes tempos de imersão em SBF foi realizada por SEM e EDS. A evolução da concentração iônica da solução foi determinada por ICP.

### **5.1.3. Influência do revestimento na resistência à corrosão**

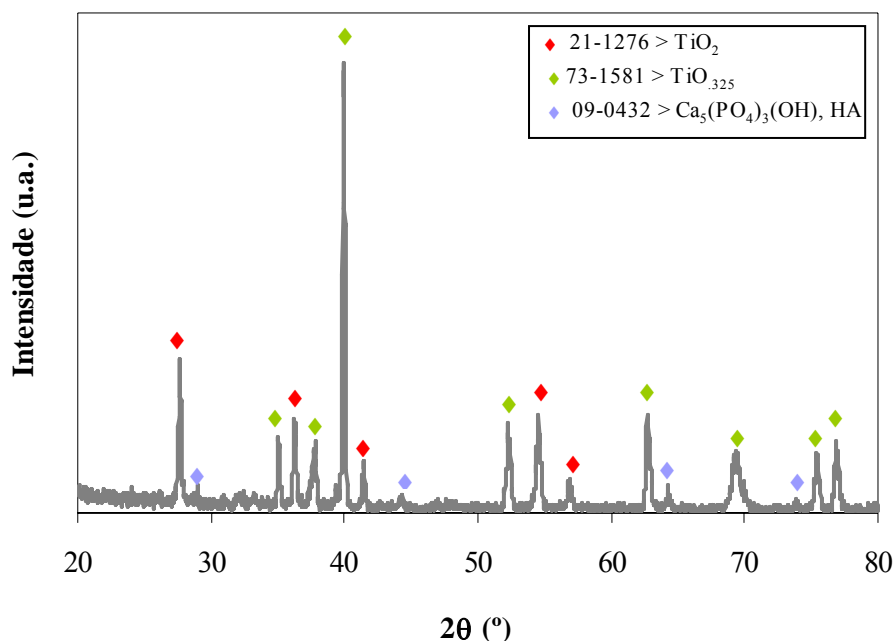
A resistência à corrosão das estruturas porosas, com e sem revestimento, foi avaliada por ensaios electroquímicos numa solução de NaCl 0,9% (m/v), em contacto com o ar, sem agitação e a uma temperatura de 37°C, de modo a simular o ambiente agressivo do plasma.

As medidas electroquímicas foram realizadas usando três eléctrodos: a amostra em estudo, um eléctrodo de calomelanos saturado (referência) e um eléctrodo de platina (contra-eléctrodo). As amostras foram embebidas em cera de abelha de modo a deixar uma área exposta aparente de  $5 \times 10 \text{ mm}^2$  ao electrólito.

O potencial em circuito aberto foi medido durante 30 minutos após contacto da amostra com a solução. A resistência de polarização das amostras na solução de teste foi medida num intervalo de -10 a 10 mV. As curvas de polarização foram obtidas após polarização das amostras num intervalo de -1000 mV a 2000 mV. A velocidade de varrimento de potencial foi de  $1 \text{ mV.s}^{-1}$ . Foram testadas duas amostras para cada condição.

## **5.2. Resultados e discussão**

A análise das estruturas porosas por difracção de raios-X, após revestimento por sol-gel e tratamento térmico a 700°C durante 3h, mostrou a presença de três fases,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_{0.325}$  e HA, como se pode verificar pela figura 21.



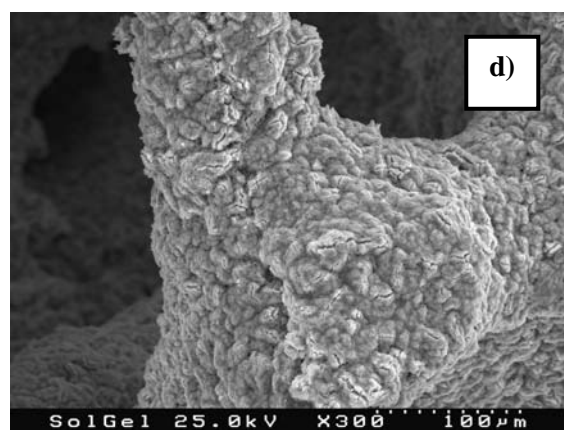
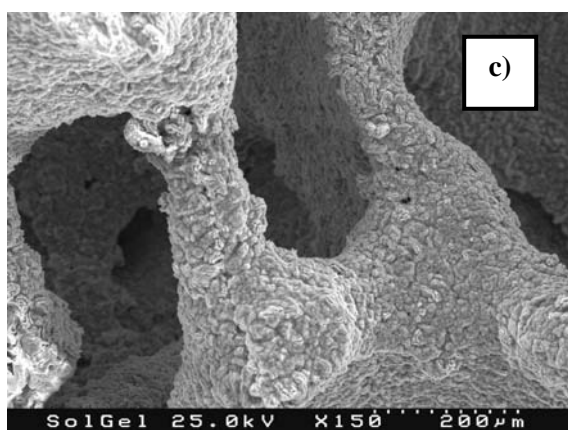
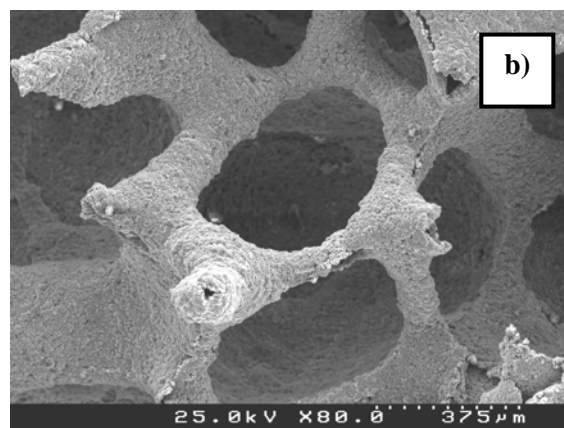
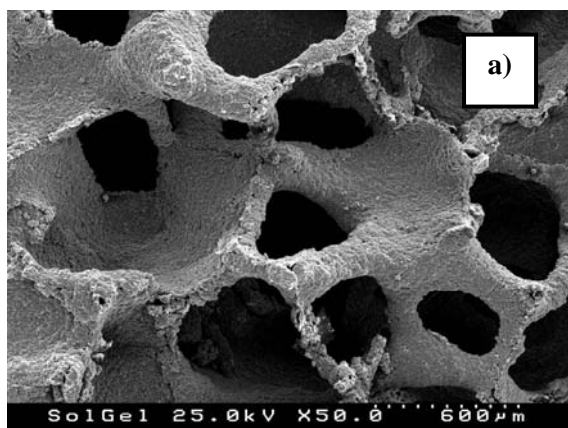
**Figura 21.** Difratograma de raios-X das estruturas porosas após revestimento por sol-gel.

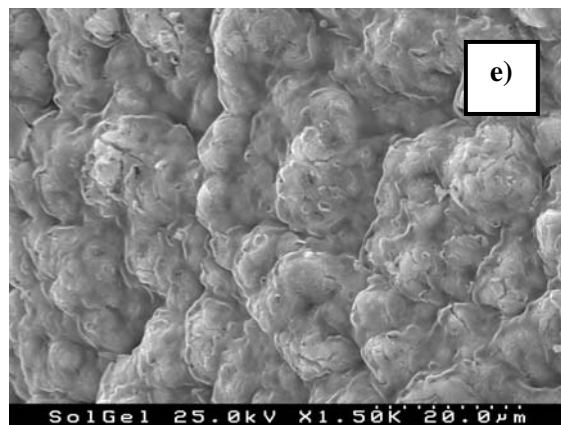
A evolução da composição superficial da estrutura porosa, de titânio para óxidos de titânio, deve-se à oxidação do substrato durante o tratamento térmico, situação que é confirmada pela ausência destes picos no difratograma de raios-X da estrutura porosa antes do revestimento (figura 18). Krishna et al. [98] verificaram que para temperaturas a partir dos 700°C, mesmo para poucos minutos, ocorre uma completa transformação da superfície do titânio em óxidos de titânio.

A escolha do titânio para a produção de estruturas porosas está relacionada com a excelente biocompatibilidade deste material, que passiva com a formação espontânea de uma camada de óxido na sua superfície, quer ao ar quer em contacto com os fluidos corporais, limitando a libertação de iões [52]. No entanto, o revestimento com hidroxiapatite permite melhorar a bioactividade e a osteocondutividade durante o período inicial de implantação. É de esperar que a camada intermédia de óxidos de titânio que se formou confira resistência à corrosão do substrato de titânio, mesmo após uma eventual dissolução biológica da camada de hidroxiapatite. Além disso, a afinidade química do  $\text{TiO}_2$

em relação à hidroxiapatite e ao titânio, faz com que a presença deste óxido contribua para uma melhor ligação entre o substrato e o revestimento [99].

A figura 22 mostra a morfologia da superfície do revestimento obtido após tratamento térmico, para diferentes ampliações. As amostras encontram-se uniformemente revestidas e o filme formado apresenta um aspecto granuloso, figura 22 d). O mesmo aspecto foi encontrado por Lim et al., [100], após o revestimento de substratos de Ti-6Al-4V pelo processo sol-gel.





**Figura 22.** Micrografias de SEM das estruturas porosas após revestimento por sol-gel.

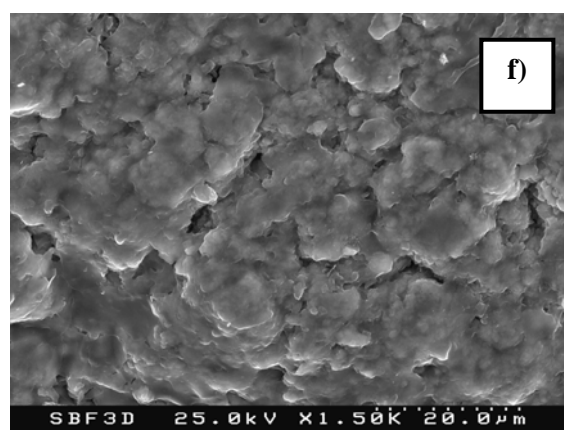
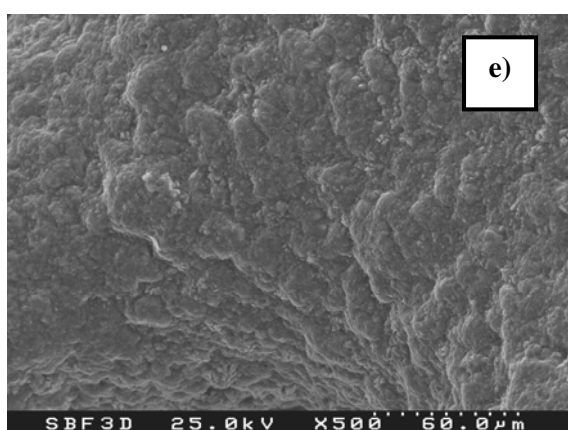
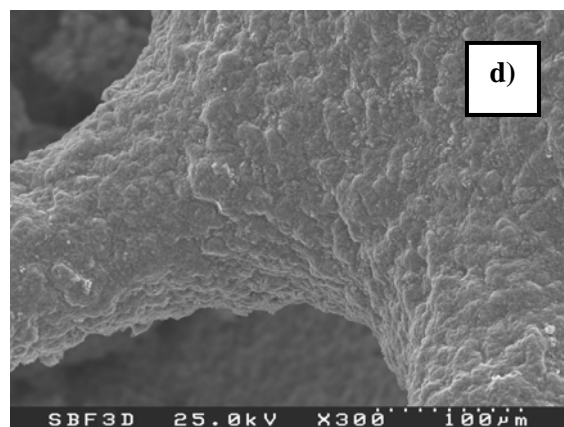
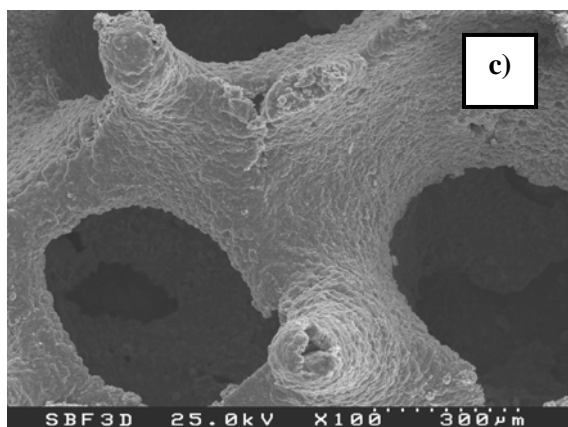
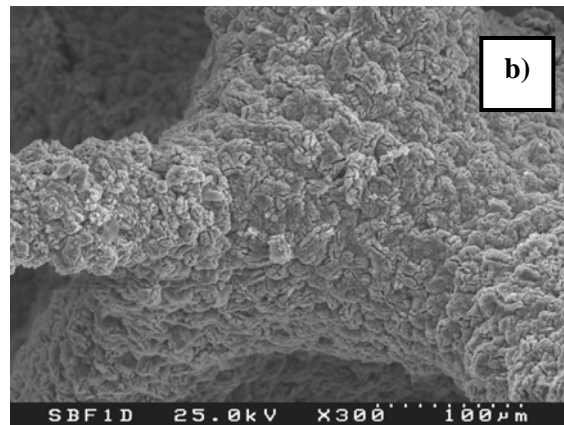
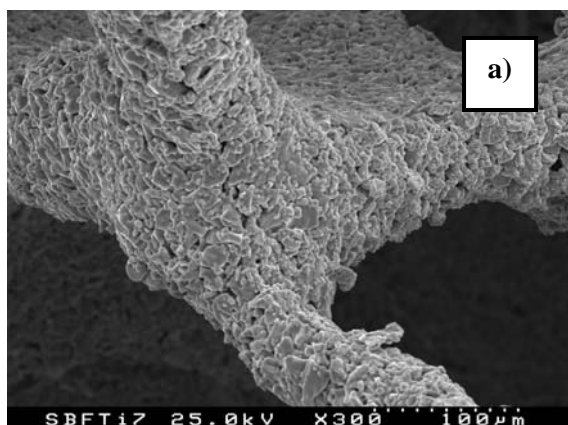
A superfície foi analisada por EDS, que confirmou a presença de um revestimento rico em cálcio e fósforo com uma razão 1,61 o qual pode ser considerado próximo do valor teórico da hidroxiapatite, que é 1,67.

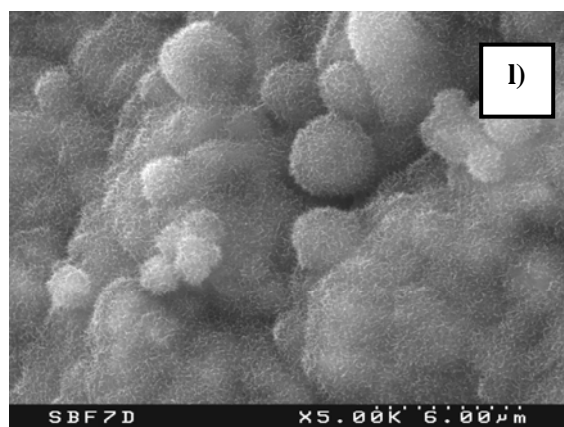
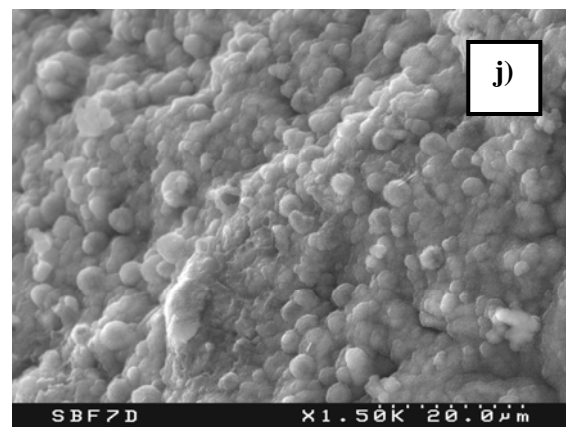
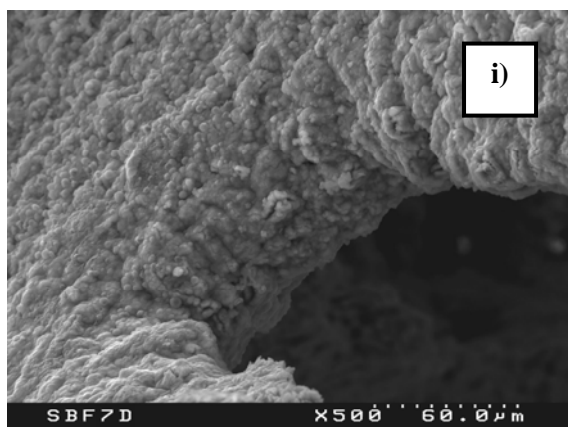
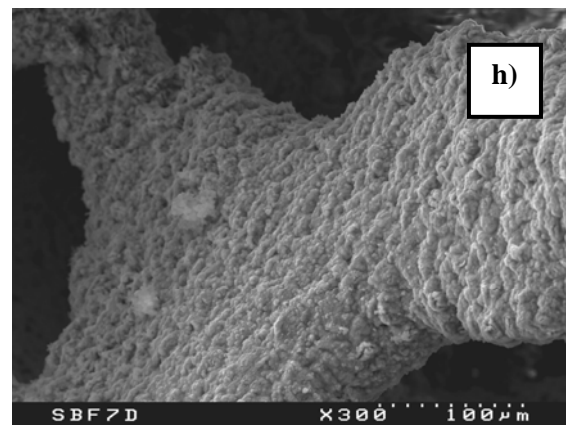
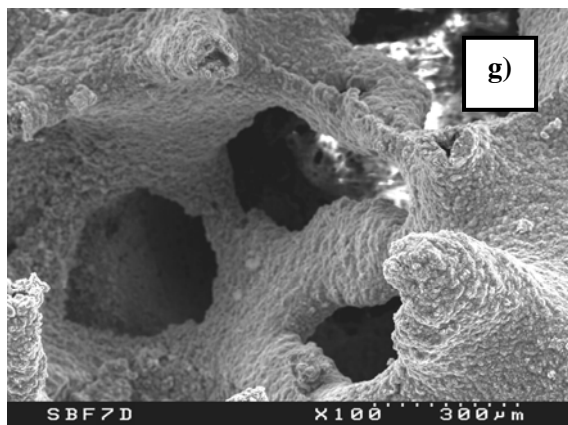
A implantação proporciona interações entre a superfície do implante e o plasma. Ocorrem, assim, reacções à escala molecular na interface que podem levar à dissolução do material implantado. Quando a superfície em contacto com o plasma é rica em fósforo e cálcio pode ocorrer a metabolização destas espécies pelo organismo ou a sua precipitação sob a forma de um outro fosfato de cálcio mais estável [101].

A situação anteriormente descrita pode ser confirmada quer pela análise da superfície das amostras após imersão em SBF, figura 23 e figura 24, quer pelas alterações de concentração ocorridas no fluido de imersão, figura 25.

Tem sido referido na literatura que uma característica importante para um material bioactivo é a sua capacidade de ligação ao osso através da formação de uma interface composta por hidroxiapatite quer *in vitro* quer *in vivo*. Além disso, esta camada é indicada para a diferenciação e proliferação de osteoblastos [102].







**Figura 23.** Micrografias de SEM das estruturas porosas após imersão em SBF: a) estrutura porosa de titânio após 7 dias de imersão em SBF, b) a l) estrutura porosa de titânio revestida com fosfato de cálcio após imersão em SBF para 1, 3 e 7 dias.

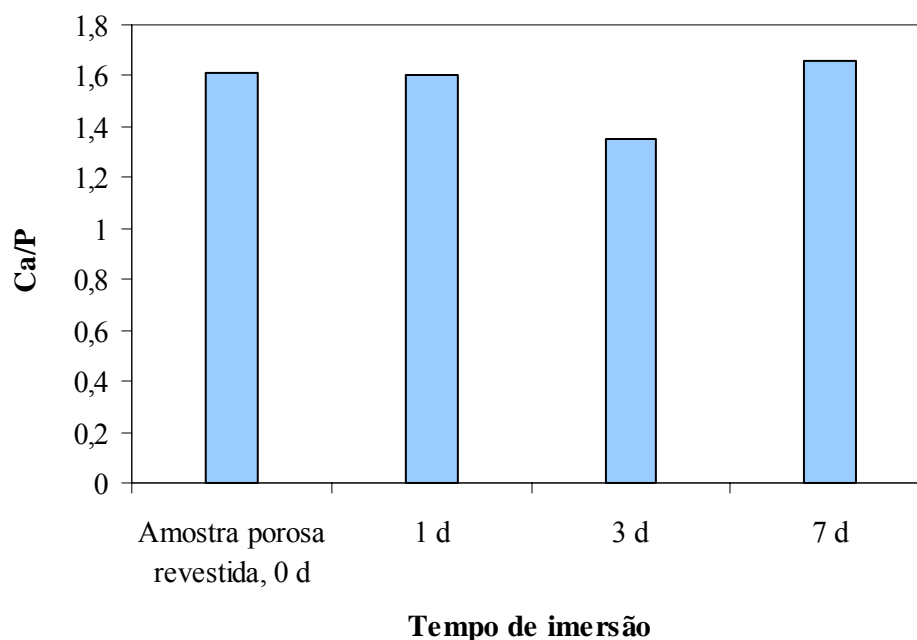
Neste estudo apenas as estruturas porosas revestidas induziram a precipitação de uma camada de hidroxiapatite na sua superfície após 7 dias de imersão em SBF. A figura 23 mostra as alterações microestruturais ocorridas na superfície das amostras.

Embora o titânio seja extensamente usado como material de implante em diferentes aplicações médicas devido às suas excelentes propriedades mecânicas e elevada resistência à corrosão, ele pertence ao grupo dos materiais bionertes. Assim, após 7 dias de imersão em SBF, a estrutura porosa sem revestimento apresenta uma superfície inalterada, como era de esperar (figura 23 a)). No caso das estruturas porosas revestidas, ocorrem alterações na sua superfície. Estas alterações são visíveis para 3 dias de imersão, onde o aspecto do revestimento se encontra modificado, como se pode verificar nas figuras 23 c) a f). Esta alteração superficial é confirmada pela diminuição da razão Ca/P, figura 24, de 1,61 para 1,35, a qual aproxima o revestimento a um fosfato octacálcico, OCP ( $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Ca/P=1,33). Este tipo de fosfato de cálcio tem sido referido como fase precursora da hidroxiapatite na mineralização óssea [103].

Prolongando o período de imersão em SBF será pois de prever uma transformação desta fase em hidroxiapatite, dado que é este o fosfato de cálcio estável nas condições de pH e temperatura usados [103], por consumo de iões cálcio da solução, reacção que é traduzida pela seguinte equação química:



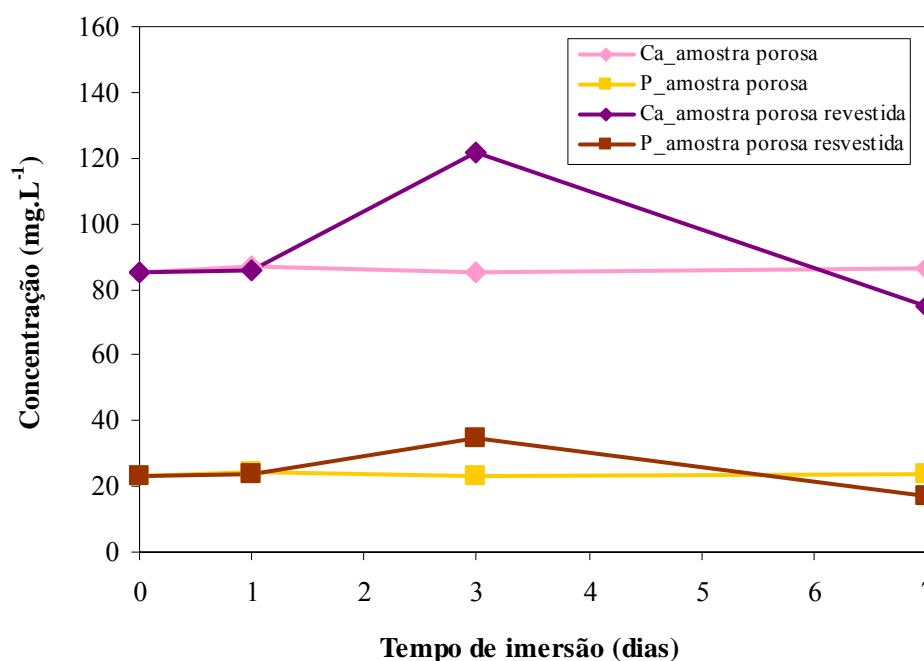
De facto, após 7 dias de imersão ocorre a formação de uma camada apatítica contínua nas paredes da estrutura porosa revestida, figura 23 g) a j), em forma de nódulos esféricos. Para maiores ampliações, figura 23 l), é possível verificar uma estrutura composta por cristais em forma de agulhas cuja morfologia é típica da hidroxiapatite. Esta evolução estrutural foi ainda confirmada por EDS, figura 24, onde a evolução atómica da razão Ca/P aponta para um valor final próximo do da hidroxiapatite.



**Figura 24.** Evolução da razão Ca/P determinada por EDS, para amostra porosa revestida, após imersão em SBF.

De modo a avaliar a dissolução do revestimento ou a precipitação iónica, da solução para a superfície das estruturas, a composição da solução de imersão foi analisada por ICP e as alterações ocorridas encontram-se representadas na figura 25. Por análise desta figura é fácil de constatar que as alterações sofridas apenas se verificaram para as amostras porosas revestidas, indicação de que nenhuma alteração ocorreu na superfície porosa sem revestimento.

As variações das concentrações de Ca e P apenas se começam a verificar após 3 dias de imersão em SBF das estruturas porosas revestidas. Nesta altura é notório um aumento destas concentrações devido à dissolução do revestimento. A partir deste período observa-se a diminuição da concentração destes iões em solução indicando a precipitação de uma camada rica em fósforo e cálcio na superfície do material, já identificada como hidroxiapatite. Estes resultados reforçam os obtidos por SEM e EDS.



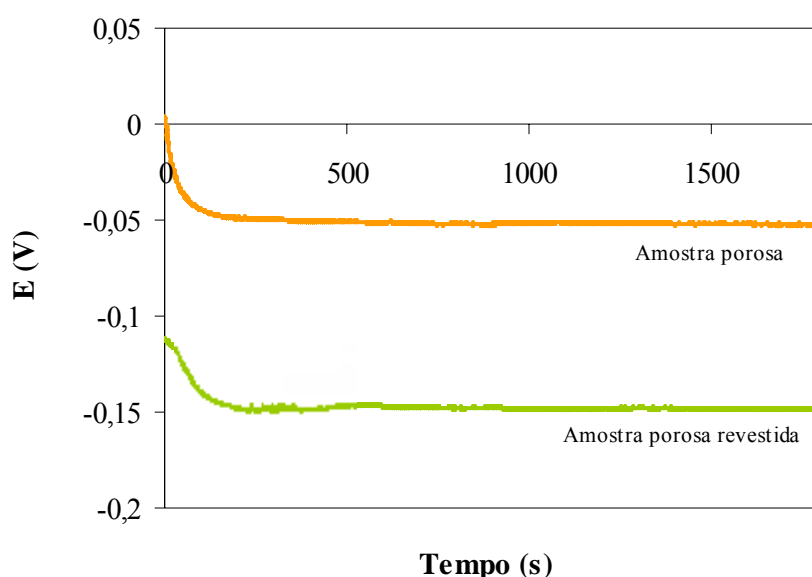
**Figura 25.** Variação da concentração de cálcio e fósforo em SBF em função do tempo de imersão das amostras porosas, sem e com revestimento.

Até ao momento foi possível verificar que a formação de uma camada apatítica na superfície de um material de implante pode ser induzida pelo revestimento da sua superfície com um cerâmico do tipo fosfato de cálcio [36]. De entre os materiais empregues, os revestimentos de hidroxiapatite (HA) são especialmente atractivos, uma vez que é introduzida na interface entre o metal e o tecido ósseo um material análogo ao osso, resultando num melhoramento da osseointegração.

É de notar ainda que os materiais implantados estão inicialmente em contacto com os fluidos corporais extracelulares, tais como sangue e fluidos intersticiais, cuja concentração em ião cloro é de  $113 \text{ mol.L}^{-1}$  no plasma sanguíneo, e  $117 \text{ mol.L}^{-1}$  no fluido intersticial, valores suficientemente elevados para corroer um material metálico. Este efeito corrosivo deve-se ao facto de o cloreto de sódio ser um electrólito forte, tendo portanto uma elevada condutividade, que é fundamental no mecanismo electroquímico de corrosão [104, 105]. O processo envolve reacções de oxidação e redução que ocorrem simultaneamente na superfície do metal [105]. No entanto, pode-se verificar a estabilidade destes biomateriais

metálicos, a qual é originada pela sua passividade electroquímica, em resultado da rápida formação de um filme de óxido quando em contacto com os fluidos corporais, e pela capacidade de evitar a rotura da camada de passivação [106]. O grau de protecção conferido por este óxido depende, entre outros factores, da sua solubilidade no electrólito, pelo que a passivação de um material não significa ausência de corrosão mas sim redução da corrosão [107]. Se o material metálico for corroído pelos fluidos corporais, podem ocorrer reacções indesejáveis nos tecidos adjacentes, tais como alergias ou toxicidade, por libertação de iões metálicos para os fluidos corporais [105]. Considerando que os materiais metálicos usados em implantes cirúrgicos não são, em muitos casos, retirados do corpo humano, por serem de presença obrigatória ou para evitar uma segunda intervenção cirúrgica, é evidente que devem apresentar grande resistência à corrosão [106]. Assim, a resistência à corrosão de um biomaterial metálico é uma propriedade vital em aplicações médicas, pelo que a avaliação dos parâmetros corrosivos representa uma etapa muito importante [105, 108].

No caso presente a variação do potencial com o tempo para as estruturas porosas está representada na figura 26.



**Figura 26.** Curva de potencial em circuito aberto para as estruturas porosas, com e sem revestimento, na solução de NaCl 0,9% a 37°C.

Após 30 minutos o potencial estabiliza para um valor de -52 mV, para a estrutura porosa de titânio, e de -149 mV para a estrutura porosa de titânio revestida com fosfato de cálcio. O revestimento desloca o potencial para valores mais negativos, situação indicativa da diminuição do efeito corrosivo. Assim, o revestimento da amostra com uma camada apatítica origina uma alteração no seu comportamento electroquímico.

A tabela 7 apresenta os valores do potencial em circuito aberto,  $E_{circ-abert}$ , obtidos a partir do gráfico anterior e os valores de potencial de corrosão,  $E_{cor}$ , corrente,  $I$ , e resistência de polarização,  $R_p$ , obtidos com base na curva de polarização (figura 27).

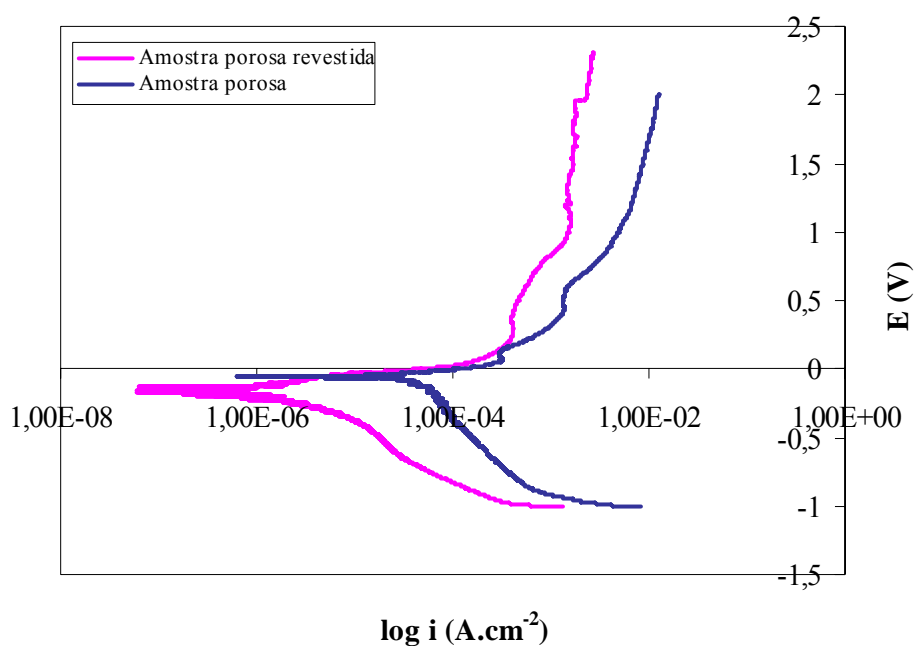
**Tabela 7.** Valores médios do potencial de circuito aberto, do potencial de corrosão, da densidade de corrente e da resistência de polarização para as amostras porosas, com e sem revestimento, na solução de NaCl 0,9% a 37°C, obtidos a partir da curva de potencial em circuito aberto e da curva de polarização.

Amostras	$E_{circ-abert}$ (mV)	$E_{cor}$ (mV)	$I$ (μA)	$R_p$ (Ω.cm <sup>2</sup> )
Porosa	-52 ± 1,26	-53 ± 12,62	670,0 ± 25,2	227 ± 6,81
Porosa revestida	-149 ± 3,16	-146 ± 6,31	39,3 ± 7,9	359 ± 3,51

Tal como seria de esperar, o potencial de corrosão, tabela 7, é próximo do valor obtido em circuito aberto, uma vez que corresponde ao potencial quando a corrente é aproximadamente nula.

Por observação da curva de polarização, figura 27, facilmente se verifica que, inicialmente, o potencial aumenta rapidamente até um valor de -274 mV para a amostra porosa revestida e de -121 mV para a amostra porosa sem revestimento. A partir destes valores a variação é lenta até que estabiliza para o potencial de corrosão. As amostras estão a sofrer polarização catódica. Este comportamento sugere um estado de passivação para ambas as amostras. No caso da amostra porosa sem revestimento, este estado de passivação está relacionado com a formação de um filme de óxido na superfície da amostra

[108]. Contudo, para potenciais acima do potencial de corrosão o aumento da densidade de corrente sugere que o carácter protector do filme passivo tende a diminuir e as amostras sofrem polarização anódica. A deslocação da curva de polarização da amostra porosa sem revestimento para valores mais elevados de densidade de corrente e de potencial é indicativa da propensão à corrosão quando comparada com a amostra revestida com fosfato de cálcio [104]. Este resultado é ainda confirmado pelos valores da resistência de polarização, tabela 7, obtidos para as amostras em estudo. O valor superior de resistência de polarização para a amostra revestida é indicativo da resistência que a superfície desta amostra oferece à passagem de corrente e, consequentemente, da diminuição do seu carácter corrosivo.



**Figura 27.** Curva de polarização para as estruturas porosas, com e sem revestimento, na solução de NaCl 0,9% a 37°C.

Os resultados obtidos neste estudo são consistentes com alguns estudos já publicados. Por exemplo, Krupa et al. [96, 109] verificaram que a resistência à corrosão do titânio pode



ser melhorada pela modificação da sua superfície por revestimento rico em fósforo e cálcio. A mesma conclusão foi obtida por Balamurugan et al. [110] após estudos electroquímicos de chapas de aço inox revestidas com fosfato de cálcio pelo processo sol-gel.



## *Capítulo 6*



## Conclusões e trabalhos futuros

Neste trabalho demonstrou-se a possibilidade de produzir estruturas metálicas porosas de titânio, pelo método de replicação da esponja, a partir de uma suspensão de hidreto de titânio. Para utilização deste método foi necessário o estudo reológico da suspensão de modo a avaliar as propriedades mais adequadas ao processamento das estruturas. A utilização de 0,3% (m) de dispersante (Dispex A40) e 0,07% (m) de gel (k-carragenano) permitiu estabilizar uma suspensão com 45% (v) de sólidos ( $\text{TiH}_2$ ) em água.

As estruturas produzidas apresentaram uma estrutura tridimensional com porosidade aberta interligada similar à do osso trabecular. A porosidade foi estimada como sendo aproximadamente 75% e o tamanho de poro está compreendido entre 100-600  $\mu\text{m}$ . O tamanho de poro depende fortemente da esponja usada no processo de fabricação das estruturas porosas podendo ser ajustado por alteração da esponja a usar.

As propriedades mecânicas foram avaliadas obtendo-se uma tensão à compressão de  $23,72 \pm 1,12$  MPa e um módulo de elasticidade de  $0,30 \pm 0,003$  GPa, aproximando estas estruturas do comportamento do osso trabecular. A aproximação das propriedades destas estruturas às do osso faz com que estes materiais sejam consideráveis para aplicações ortopédicas, prevenindo o efeito de blindagem de tensões introduzido pela utilização de titânio maciço.

Os ensaios *in vitro* em SBF das estruturas porosas revestidas permitiram o desenvolvimento da camada apatítica pré-existente na superfície dos poros, indicadora da bioactividade do material modificado por revestimento. A morfologia da camada formada em SBF e a sua análise por EDS mostraram tratar-se de hidroxiapatite. O revestimento por sol-gel permitiu ainda melhorar a resistência à corrosão das estruturas porosas.

O presente trabalho deixa ainda em aberto alguns aspectos que seriam importantes de explorar:

- estudo da adesão do revestimento ao substrato de modo a garantir uma ligação estável biomaterial/osso;

- realização de ensaios *in vitro* na presença de células de modo a avaliar o carácter citotóxico das estruturas produzidas, a adesão celular, proliferação e diferenciação. Este estudo é uma etapa importante para avaliar o desempenho do implante uma vez que a resposta celular depende das propriedades físicas e químicas do substrato;

- optimização de suspensões para a produção de estruturas porosas por microextrusão. O interesse nesta técnica decorre da possibilidade de ela permitir que se copie a arquitectura do osso por deposição de camada a camada da suspensão preparada.

## ***Bibliografia***





- [1] VI Sikavitsas, JS Temenoff, AG Mikos, “Biomaterials and bone mechanotransduction”, *Biomaterials*, 22 (2001) 2581-2593.
- [2] F Bronner, RV Worrell “Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science”.
- [3] J Vauhan, “The physiology of bone”, Oxford Science Publications, Third edition, 1981.
- [4] <http://www.klickeducacao.com.br / Images/acbi5603.jpg>.
- [5] JL Gurgel, “Respostas ósseas a cargas mecânicas”, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.
- [6] SC Cowin, “Bone mechanics handbook”, CRC Press, 2nd Edition, 2000.
- [7] C Schwartzmann, OL, M Telöken & cols, “Fraturas: princípios e práticas”, Porto Alegre: Artmed Editora, 2003.
- [8] A Ravagliolo, A Krajewski, “Bioceramics: Materials, Properties, Applications”, Chapman & Hall.
- [9] <http://www.cbpf.br/RevistaCBPF/pdf/BioMat.pdf>.
- [10] Apontamentos da disciplina Ciências Biomédicas do Mestrado em Engenharia Biomédica- Ramo Biomateriais, 1ª Edição, 2004/2006.
- [11] <http://depts.washington.edu/bonebio/ASBMRed/structure.html>.
- [12] J Salo, “Bone resorbing osteoclasts reveal two basal plasma membrane domains and transcytosis of degraded matrix material”, Department of Anatomy and Cell Biology, and Biocenter Oulu, University of Oulu, Oulu 2002.

- [13] HMPG Tomas, “Avaliação do comportamento à corrosão e da citocompatibilidade de uma liga ortopédica de Co-Cr-Mo”, Dissertação de Doutoramento, Universidade de Lisboa, 1995.
- [14] LCV Reyes, “Aplicação de um vidro bioativo em tíbias de coelhos”, Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2000.
- [15] TP Rüedi, WM Murphy, CL Colton, AF Dell’Oca, U Holz, JF Kelam, PE Ochsner, “AO Principles of Fracture Management”, AO Publishing, New York, 2000.
- [16] Dr B Wehrli, “Pathology of bone fractures”, Pathology, LHSC, University Campus.
- [17] M Fini, G Giavaresi, P Torricelli, V Borsari, R Giardino, A Nicolini, A Carpi, “Osteoporosis and biomaterial osteointegration”, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 58 (2004) 487-493.
- [18] DL Wise, DJ Trantolo, DE Altobelli, MJ Yaszemski, JD Gresser, “Human biomaterials applications”, Human press, Totowa, New Jersey, 1996.
- [19] Engenho e Obra – Engenharia em Portugal no século XX, acção de formação de 20 de Dezembro, Bioengenharias/ACM.
- [20] CAS Bastos, “Estudo da interface Ti-6Al-4V/TiO<sub>2</sub> por microscopia electrónica de varrimento”, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2000.
- [21] APVA Serro, “Biomíneralização de materiais de implante: estudos de molhabilidade”, Dissertação de Doutoramento, Universidade Técnica de Lisboa, 2001.
- [22] D Hill, “Design engineering of biomaterials for medical devices”, *Biomaterials Science and Engineering Series*, Wiley.

[23] Glória de Almeida Soares, “Biomateriais: classificação, selecção e avaliação”, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro.

[24] J Black, “Biological performance of materials: fundamentals of biocompatibility”, Marcel Dekker, Inc., Second edition, 1992.

[25] LA Santos, “Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica”, Dissertação de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

[26] <http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss/2003-1028-131747/c1.pdf>.

[27] LL Hench, “Bioceramics”, Journal of American Ceramic Society 81(7) (1998) 1705-1728.

[28] LL Hench, “Ceramics, Glasses and Glass-Ceramics.” In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, editors. Biomaterials science – An Introduction to materials in medicine, London: academic press, 1996.

[29] LL Hench, “Bioceramics from concept to clinic”, Journal of American Ceramic Society 74(7) (1991) 1487-1510.

[30] W Cao, LL Hench, “Biactive materials”, Ceramics International 22 (1996) 493-507.

[31] [www.cirurgioplastica.com.ve](http://www.cirurgioplastica.com.ve).

[32] N Volpi, “Adsorption of glycosaminoglycans onto coral - a new possible implant biomaterial for regeneration therapy”, Biomaterials 20 (1999) 1359-1363.

[33] ND Spencer, M Textor, “Surface modification, surface analysis, and biomaterials, Laboratory for Surface Science and Technology”, Department of Materials, ETH Zürich.

- [34] J Lausmaa, "Surface spectroscopic characterization of titanium implant materials", *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 81 (1996) 343-361.
- [35] P Cacciafesta, KR Hallam, AC Watkinson, GC Allen, MJ Miles, KD Jandt, "Visualisation of human plasma fibrinogen adsorbed on titanium implant surfaces with different roughness", *Surface Science* 491 (2001) 405-420.
- [36] M Niinomi "Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods", *Science and Technology of Advanced Materials* 4 (2003) 445-454.
- [37] I Vaquira, LI Vergara, MCG Passeggi, RA Vidal, J Ferrón, "Chemical reactions at surfaces: titanium oxidation", *Surface & Coatings Technology* 122 (1999) 67-71.
- [38] H Guleryuz, H Cimenoglu, "Surface modification of a Ti-6Al-4V alloy by thermal oxidation", *Surface & Coatings Technology* 192 (2005) 164-170.
- [39] A Bloyce, PY Qi, H Dong, T Bell, "Surface modification of titanium alloy for combined improvements in corrosion and wear resistance", *Surface & Coatings Technology* 107 (1998) 125-132.
- [40] H Gülerüz, H Cimenoglu, "Effect of thermal oxidation on corrosion and corrosion-wear behaviour of a Ti-6Al-4V alloy", *Biomaterials* 25 (2004) 3325-3333.
- [41] YS Tian, CZ Chen, ST Li, QH Huo, "Research progress on laser surface modification of titanium alloys", *Applied Surface Science* 242 (2005) 177-184.
- [42] X Liu, PK Chu, C Ding, "Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications", *Materials Science and Engineering R* 47 (2004) 49-121.

- [43] YL Brama, Y Sun, SRK Dangeti, M Mujahid, "Response of sputtered titanium films on silicon to thermal oxidation", *Surface & Coatings Technology* 195 (2005) 189-197.
- [44] F Borgioli, E. Galvanetto, F Iozzelli, G Pradelli, "Improvement of wear resistance of Ti-6Al-4V alloy by means of thermal oxidation", *Materials Letters* 59 (2005) 2159-2162.
- [45] F Borgioli, E Galvanetto, FP Galliano, T Bacci, "Air treatment of pure titanium by furnace and glow-discharge processes", *Surface & Coatings Technology* 141 (2001) 103-107.
- [46] E Conforto, BO Aronsson, A Salito, C Crestou, D Caillard, "Rough surfaces of titanium and titanium alloys for implants and prostheses", *Materials Science and Engineering C24* (2004) 611-618.
- [47] JG Gerstorfer, "Nano hydroxyapatite/collagen, nano hydroxyapatite and anodic oxides on titanium – preparation, characterization and biological responses", *Inaugural-Dissertation Zur Erlangung des Doktorgrades der Humanwissenschaften der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen* (2005).
- [48] DSR Krishna, Y Sun, "Effect of thermal oxidation conditions on tribological behaviour of titanium films on 316L stainless steel", *Surface & Coatings Technology* 198 (2005) 447-453.
- [49] DSR Krishna, Y Sun, "Thermally oxidised rutile-TiO<sub>2</sub> coating on stainless steel for tribological properties and corrosion resistance enhancement", *Applied Surface Science* 252 (2005) 1107-1116.
- [50] CE Wen, Y Yamada, K Shimojima, Y Chino, T Asahina, M Mabuchi, "Processing and mechanical properties of autogenous titanium implant materials", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 13 (2002) 397-401.

- [51] ED Spoerke, NG Murray, H Li, LC Brinson, DC Dunand, SI Stupp, "A bioactive titanium foam scaffold for bone repair", *Acta Biomaterialia* 1 (2005) 523-533.
- [52] J-P St-Pierre, M Gauthier, L-P Lefebvre, M Tabrizian, "Three-dimensional growth of differentiating MC3T3-E1 pre-osteoblasts on porous titanium scaffolds", *Biomaterials* 26 (2005) 7319-7328.
- [53] G Ryan, A Pandit, DP Apatsidis, "Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications", *Biomaterials* 27 (2006) 2651-2670.
- [54] JP Li, SH Li, CAV Blitterswijk, K de Groot, "A novel porous Ti6Al4V: characterization and cell attachment", *Journal of Biomedical Materials Research* 73A (2005) 223-233.
- [55] JP Li, JR de Wijn, CAV Blitterswijk, K de Groot, "Porous Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V scaffold directly fabricating by rapid prototyping: preparation and in vitro experiment", *Biomaterials* 27 (2006) 1223-1235.
- [56] S Ni, J Chang, L Chou, "A novel bioactive porous CaSiO<sub>3</sub> scaffold for bone tissue engineering", *Journal of Biomedical Materials Research* 76A (2006) 196-205.
- [57] S Nishiguchi, H Kato, H Fujita, HM Kim, F Miyaji, T Kokubo, T Nakamura, "Enhancement of bone-bonding strengths of titanium alloy implants by alkali and heat treatments", *Journal of Biomedical Materials Research* 48 (1999) 689-696.
- [58] Q Zhang, Y Leng, R Xin, "A comparative study of electrochemical deposition and biomimetic deposition of calcium phosphate on porous titanium", *Biomaterials* 26 (2005) 2857-2865.
- [59] FH Lin, YS Hsu, SH Lin, TM Chen, "The growth of hydroxyapatite on alkaline treated Ti-6Al-4V soaking in higher temperature with concentrated Ca<sup>2+</sup>/HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> simulated body fluid", *Materials Chemistry and Physics* 87 (2004) 24-30.

- [60] S Kačiulis, G Mattogno, A Napoli, E Bemporad, F Ferrari, A Montenero, G Gnappi, “Surface analysis of biocompatible coatings on titanium”, *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 95 (1998) 61-69.
- [61] BS Ng, I Annergren, AM Soutar, KA Khor, AEW Jarfors, “Characterisation of a duplex TiO<sub>2</sub>/CaP coating on Ti6Al4V for hard tissue replacement”, *Biomaterials* 26 (2005) 1087-1095.
- [62] M Sato, EB Slamovich, TJ Webster, “Enhanced osteoblast adhesion on hydrothermally treated hydroxyapatite/titania/poly(lactide-*co*-glycolide) sol-gel titanium coatings”, *Biomaterials* 26 (2005) 1349-1357.
- [63] HW Kim, HE Kim, V Salih, JC Knowles, “Hydroxyapatite and titania sol-gel composite coatings on titanium for hard tissue implants; mechanical and in vitro biological performance”, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 72B (2005) 1-8.
- [64] HW Kim, YM Kong, CJ Bae, YJ Noh, HE Kim, “Sol-gel derived fluor-hydroxyapatite biocoatings on zirconia substrate”, *Biomaterials* 25 (2004) 2919-2926.
- [65] HW Kim, JC Knowles, V Salih, HE Kim, “Hydroxyapatite and fluor-hydroxyapatite layered film on titanium processed by a sol-gel route for hard-tissue implants”, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 71B (2004) 66-76.
- [66] DM Brunette, P Tengvall, M Textor, P Thomsen, “Titanium in medicine”, Springer (2001) 269-272.
- [67] NM José, LASA Prado, “Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações”, *Química Nova* 28(2) (2005) 281-288.

- [68] MR Ally, “Metal hydride temperature amplifiers for high temperature ( $>260^{\circ}\text{C}$ ) applications – a parametric study”, Oak Ridge National Laboratory, December 1996.
- [69] CRF Azevedo, D Rodrigues, FB Neto, “Ti-Al-V powder metallurgy (PM) via the hydrogenation-dehydrogenation (HDH) process”, *Journal of Alloys and Compounds* 353 (2003) 217-227.
- [70] V Bhosle, EG Baburaj, M Miranova, K Salama, “Dehydrogenation of  $\text{TiH}_2$ ”, *Materials and Engineering* A356 (2003) 190-199.
- [71] JMF Ferreira, “Rheology of Industrial Processes”, Departamento de Engenharia Cerâmica, Universidade de Aveiro, 2003.
- [72] EJ Mammarella, AC Rubiolo, “Crosslinking kinetics of cation-hydrocolloid gels”, *Chemical Engineering Journal* 94 (2003) 73-77.
- [73] A Tecante, JL Doublier, “Steady flow and viscoelastic behavior of crosslink waxy corn starch-k-carrageenan pastes and gels”, *Carbohydrate Polymers* 40 (1999) 221-231.
- [74] C Traquilar-Aranilla, F Yoshii, AMD Rosa, K. Makuuchi, “Kappa-carrageenan-polyethylene oxide hydrogel blends prepared by gamma irradiation”, *Radiation Physics and Chemistry* 55 (1999) 127-131.
- [75] SY Park, BI Lee, ST Jung, HJ Park, “Biopolymer composite films based on k-carrageenan and chitosan”, *Materials Research Bulletin* 36 (2001) 511-519.
- [76] P Montero, M Pérez-Mateos, “Effects of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{k}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  on gels formed from fish mince containing a carrageenan or alginate”, *Food Hydrocolloids* 16 (2002) 375-385.
- [77] MR Mangione, D Giacomazza, D Bulone, V Martorana, G Cavallaro, PLS Biagio, “ $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  effects on the gelation properties of k-Carrageenan”, *Biophysical Chemistry* 113 (2005) 129-135.



- [78] YA Shchipunov, "Sol-gel-derived biomaterials of silica and carrageenans", *Journal of Colloid and Interface Science* 268 (2003) 68-76.
- [79] T Kokubo, H Hushitani, S Salla, T Kitsugi, T Yamamuro, "Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in Bioactive glassceramic", *Journal of Biomedical Materials Research* 24 (1990) 721-734.
- [80] K Shqau, "Electrosteric dispersants used in colloidal processing of ceramics", Group Inorganic Materials Science, Department Materials Science & Engineering, Ohio State University, 6 January 2005 (Literature review).
- [81] X-J Luo, X-R Xu, B-L Zhang, W-L Li, H-R Zhuang, "Characteristic and dispersion of a treated AlN powder in aqueous solvent", *Materials Science and Engineering A368* (2004) 126-130.
- [82] BP Singh, S Bhattacharjee, L Besra, DK Sengupta, "Evaluation of dispersability of aqueous alumina suspension in presence of Darvan C", *Ceramics International* 30 (2004) 939-946.
- [83] D Kong, H Yang, Y Yang, S Wei, J Wang, B Cheng, "Dispersion behavior and stabilization mechanism of alumina powders in silica sol", *Materials Letters* 58 (2004) 3503-3508.
- [84] T Chartier, S Souchard, JF Baumard, H Vesteghem, "Degradation of dispersant during milling", *Journal of the European Ceramic Society* 16 (1996) 1283-1291.
- [85] X Xu, MILL Oliveira, R Fu, JMF Ferreira, "Effect of dispersant on the rheological properties and slip casting of concentrated sialon precursor suspensions", *Journal of the European Ceramic Society* 23 (2003) 1525-1530.
- [86] R Lapasin, S Prici, "Rheology of industrial polysaccharides – theory and applications", Chapman & Hall, first edition, 1995.

- [87] SMH Olhero, “Utilização de polissacarídeos geleficantes no controlo reológico de suspensões cerâmicas e na conformação de corpos por gelcasting”, Tese de Mestrado, Universidade de Aveiro, 2001.
- [88] CE Wen, Y Yamada, K Shimojima, Y Chino, T Asahina, M Mabuchi, “Processing and mechanical properties of autogenous titanium implant materials”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 13 (2002) 397-401.
- [89] M Niinomi, “Mechanical properties of biomedical titanium alloys”, *Materials Science and Engineering A* 243 (1998) 231-236.
- [90] ZS Rak, J Walter, “Porous titanium foil by tape casting technique”, *Journal of Materials Processing Technology* xxx (2005) xxx-xxx (in press).
- [91] VA Dubok, “Bioceramics – Yesterday, today, tomorrow”, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics* 39 (2000) 381-393.
- [92] TV Thanaraiselvi, Rajeswari, “Biological evaluation of bioceramic materials – a review”, *Trends Biomater Artif Organs* 18(1) (2004) 9-17.
- [93] LL Hench, “Bioceramics”, *Journal of American Ceramic Society* 81(7) (1998) 1705-1728.
- [94] M Takemoto, S Fujibayashi, M Neo, J Suzuki, T Kokubo, T Nakamura, “Mechanical properties and osteoconductivity of porous bioactive titanium”, *Biomaterials* 26 (2005) 6014-6023.
- [95] J Li, S Li, K Groot, P Layrolle, “Preparation and characterization of porous titanium”, *Key Engineering Materials* 218-220 (2002).

- [96] W Weng, S Zhang, K Cheng, H Qu, P Du, G Shen, J Yuan, G Han, "Sol-gel preparation of bioactive apatite films", *Surfaces and Coating Technology* 167 (2003) 292-296.
- [97] D Krupa, J Baszkiewicz, J Kozubowski, A Barcz, J Sobczak, A Biliński, B Rajchel, "The influence of calcium and/or phosphorous ion implantation on the structure and corrosion resistance of titanium", *Vacuum* 63 (2001) 715-719.
- [98] DSR Krishna, Y Sun, "Effect of thermal oxidation conditions on tribological behaviour of titanium films on 316L stainless steel", *Surface & Coatings Technology* 198 (2005) 447-453.
- [99] H-W Kim, Y-H Koh, L-H Li, S Lee, H-E Kim, "Hydroxypapatite coating on titanium substrates with titania buffer layer processed by sol-gel method", *Biomaterials* 25 (2004) 2533-2538.
- [100] Y-M Lim, K-S Hwang, Y-J Park, "Sol-gel derived functionally graded TiO<sub>2</sub>/HAP films on Ti-6Al-4V implants", *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 21 (2001) 123-128.
- [101] MHP Silva, JHC Lima, GA Soares, CN Elias, MC Andrade, SM Best, IR Gibson, "Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium", *Surface Coatings & Technology* 137 (2001) 270-276.
- [102] N Olmo, AI Mratín, AJ Salinas, J Turnay, M Vallet-Regí, MA Lizarbe, "Bioactive sol-gel glasses with and without a hydroxycarbonate apatite layer as substrates for osteoblast cell adhesion and proliferation", *Biomaterials* 24 (2003) 3383-3393.
- [103] F Barrère, P Layrolle, CAV Blitterswijk, K de Groot, "Biomimetic coatings on titanium: a crystal growth study of octacalcium phosphate", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 12 (2001) 529-534.

- [104] X Liu, PK Chu, C Ding, “Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications”, *Materials Science and Engineering R* 47 (2004) 49-121.
- [105] V Gentil, “Corrosão”, Livros Técnicos e Científicos Editora, 3ª Edição.
- [106] RM Souto, MM Laz, RL Reis, “Degradation characteristics of hydroxyapatite coatings on orthopaedic TiAlV in simulated physiological media investigated by electrochemical impedance spectroscopy”, *Biomaterials* 24 (2003) 4213-4221.
- [107] S Takemoto, M Hattori, M Yoshinari, E Kawada, Y Oda, “Corrosion behavior and surface characterization of titanium in solution containing fluoride and albumin”, *Biomaterials* 26 (2005) 829-837.
- [108] SL Assis, S Wolyneć, I Costa, “Corrosion characterization of titanium alloys by electrochemical techniques”, *Electrochimica Acta* 51 (2006) 1815-1819.
- [109] D Krupa, J Baszkiewicz, JW Sobczak, A Biliński, A Barcz, “Modifying the properties of titanium surface with the aim of improving its bioactivity and corrosion resistance”, *Journal of Materials Processing Technology* 143-144 (2003) 158-163.
- [110] A Balamurugan, S Kannan, S Rajeswari, “Bioactive sol-gel hydroxyapatite surface for biomedical applications – in vitro study”, *Trends Biomaterials Artificial Organs* 16(1) (2002) 18-20.